目　　录

第一篇　液相色谱方法

第二篇　谱图选集

表 目 录

第一篇　液相色谱方法

第一章　液相色谱基础

第一节　概　　述

色谱学是现代分离分析的一个重要方法。半个世纪以来，气相色谱、液相色谱、薄层色谱、凝胶渗透色谱和纸色谱等色谱学分支都得到了较大的发展，而离子色谱、超临界流体色谱、毛细管电泳和毛细管电色谱等新型色谱分离模式的相继问世，使色谱法的应用范围不断拓宽，在石油化工、有机合成、生理生化、医药卫生，乃至空间探索等诸多领域发挥了重要的作用。色谱法也渗入到催化机理、吸附动力学、化学反应动力学、溶液理论研究等基础理论研究方面，用于揭示物理化学领域内的某些基本现象和规律的微小差异。色谱与各种有关的联用技术的出现，如色谱-质谱联用，色谱-红外光谱联用等更开辟了复杂混合物分析检测的新天地。目前，色谱法已经成为人们认识客观世界必不可少的工具，并在不断丰富、提高和发展的实践过程中形成了一门独立的学科。随着色谱学科的发展，作为色谱学重要分支的液相色谱法也得到了长足的发展。本章对液相色谱法的历史、原理及相关分离模式的分类方法作一概述。

一、液相色谱法的发展史

现代色谱法从发明到现在已有近百年的历史。实际上，早在古代罗马时期，人们已知道将一滴含有混合色素的溶液滴在一块布或一片纸上，并通过观察溶液展开产生的一个个同心圆环来分析染料与色素。在100多年前，德国的化学家Runge对古罗马人的这种方法作了重要的改进，使其具有更好的重现性与定量能力，这项技术后来发展成为今天的纸上色谱技术。

俄国植物学家Tswett关于色谱分离方法的研究始于1901年，他在1903年的华沙自然科学学会生物学会会议上发表了题为“一种新型吸附现象及其在生化分析上的应用”的论文中提出了应用吸附原理分离植物色素的新方法，并首先认识到这种层析现象在分离分析方面有重大价值。3年后，他将这种方法命名为色谱法（Chromatography）。在1907年的德国生物学学术会议上，Tswett[1~3]第一次向人们公开展示了采用色谱法提纯的植物色素溶液以及色谱图——显示着彩色环带的柱管。由于当时Tswett还不是一位著名的植物学家，而他的色谱论文又仅仅采用俄文发表，因此刚刚诞生的色谱分离技术并没有引起人们的足够重视。20多年后，Kuhn等[4]为了证实蛋黄内的叶黄素系植物叶黄素与玉米黄质的混合物，参考Tswett的方法，采用粉碎的碳酸钙装填色谱柱，成功地从蛋黄中分离出了植物叶黄素。他们工作的重要意义不仅仅在于证明了蛋黄叶黄素是氧化类胡萝卜素的混合物，更重要的是证实色谱法可以用来进行制备分离。此后，色谱分离方法才迅速被各国科学工作者注意和应用，并更广泛地用于各种天然有机化合物的分析与分离。

液相色谱的进一步发展得益于瑞典科学家Tiselius[5~7]以及Claesson的努力，他们创立了

液相色谱的前沿分析与取代扩展技术。1941 年 Martin 等采用水分饱和的硅胶为固定相，以含有乙醇的氯仿为流动相分离乙酰基氨基酸的工作是分配色谱的首次应用。他们也在总结其研究成果的基础上提出了著名的色谱塔片理论。

液固色谱是最先创立的色谱方法，最初液相色谱柱多是采用碳酸钙、硅胶、氧化铝填充的玻璃柱管，流动相加在柱管上端，在地球吸引力的作用下顺流向下迁移，而组分的检测则依靠肉眼的观察或将吸附剂从柱管中取出，并进一步进行分析，色谱仅起到分离的作用。自液固色谱被创立后的 50 多年时间里，液固色谱装置并无多大实质性的改进。直到 60 年代，随着在气相色谱方面知识的积累，人们把气相色谱中获得的系统理论与实践经验应用于液相色谱理论研究，多种高效微粒填充剂被研制成功，采用细粒度高效柱，大大提高了液相色谱的分离能力。与此同时，以高压输液泵替代重力作用，更加快了液相色谱的分析速度。而柱分离技术与光学检测器相结合也使得液相色谱由最初的以分离目的为主，发展为可以同时完成分离分析目的的重要分析方法。在数据处理方面，20 世纪 60 年代初期，人们已经制成了机械式的色谱积分器，从而有可能比较准确地测定色谱峰面积。20 世纪 60 年代中期，新式的电子数字式积分仪代替了过去的模拟积分器，色谱图的数据处理精度得到了进一步提高。所有这些标志着高速、高压、高效的液相色谱法已蓬勃发展起来。

在 20 世纪 70 年代，色谱仪器的性能不断得到改善，采用自动电导检测器分析痕量正负离子的新式离子交换色谱法等新型分离模式开始出现。使液相色谱无论是在技术上还是在仪器上，都产生了一个新的飞跃。20 世纪 70 年代初期已生产出带小型微处理机的色谱仪。当初色谱仪的微处理机功能虽然比较简单，但它却显示出了色谱仪器发展的方向，标志着色谱仪的制造又进入了新的时代。20 世纪 70 年代后期，某些型号的色谱仪已经配备了小型的微型计算机，应用十分灵活。它除可以进行数据采集、处理外，还可以用来控制色谱操作条件，色谱工作者可以根据自己的需要编排程序进行工作。

20 世纪 80 年代发展起来的毛细管电泳技术，结合了毛细管色谱技术及色谱微量检测方法，运用在电场中离子迁移速度不同的原理进行分离分析，解决了 DNA 及其片断、单克隆抗体、蛋白质及多肽等一般色谱技术难于解决的分离分析问题。随着生物工程研究的进展，人们运用色谱法能够制备微量而贵重的生物活性化合物，从而发展了细内径的高效制备色谱柱及径向制备色谱。

以制备色谱为主要对象的非线性色谱理论，近年来获得长足的发展，另一方面毛细管液相色谱的理论塔板数已大大提高，电化学检测和激光诱导荧光法已获得很大发展，光电二极管阵列光谱检测器是 HPLC 检测技术的重大进展，对紫外可见光谱的快速扫描检测，使液相色谱能提供的信息量大幅度增加，为化学计量学中的许多手段，如模式识别等，提供了重要的应用领域。此外，在广义上作为液相色谱一种形式的薄层色谱正广泛采用点样自动化和光谱、质谱检测等手段，向仪器化和计算机化的方向迅速发展。

今天，色谱仪器、技术还在继续向前发展，新的色谱仪器与色谱方法不断出现。所有这些为色谱方法的应用开拓了更大、更新的应用领域。事实上色谱方法已经成了化学家分析分离复杂混合物不可缺少的工具。

二、液相色谱法原理和特点

色谱法作为一种分离方法，它利用物质在两相中吸附或分配系数的微小差异达到分离的目的。当两相作相对移动时，被测物质在两相之间进行反复多次的分配，这样使原来微小的

分配差异产生了很大的效果，达到分离、分析及测定一些物理化学常数的目的。而色谱作为一种分析方法，其最大特点在于能将复杂的混合物分离为各个有关的组成后，逐个地加以检测。

一般而言，色谱过程中不同组分在相对运动、不相混溶的两相间交换，其中相对静止的一相称固定相，另一个相对运动的相称流动相。不同组分在两相间的吸附、分配、离子交换、亲和力或分子尺寸等性质存在微小差别，经过连续多次在两相间的质量交换，这种性质微小差别被叠加、放大，最终得到分离，因此不同组分性质上的微小差别是色谱分离的根本，即必要条件；而性质上微小差别的组分之所以能得以分离，是因为它们在两相之间进行了上千次甚至上百万次的质量交换，这是色谱分离的充分条件。

色谱法具有高效、快速、灵敏的特点，液相色谱与气相色谱相比，液相色谱的最大特点是可以分离不可挥发而具有一定溶解性的物质或受热后不稳定的物质，而这类物质在已知化合物中占有相当大的比例。

目前在生命科学中又显示出液相色谱的突出地位[6]。分析、分离和纯化生物大分子物质是目前极为活跃的研究领域。研究手性分子的分离和分析是液相色谱的重要对象。色谱的重要性首先在于它使性质上非常接近的物质的分离测定成为可能，正是这一点使它成为近代化学、生物学研究与发展中一个极为重要和不可缺少的手段。

三、液相色谱法的分类

液相色谱中包括多种分离模式，一般而言，从不同的角度出发，可以按照表 1-1 的方法进行分类。

表 1-1　液相色谱法分类[7]

按固定相形态分类		按作用原理分类		按物理特征分类	
固定相	名　称	原　理	名　称	特　征	名　称
液体	液液色谱	分配	液液分配色谱	平面状固定相	平面色谱
固体	液固色谱	吸附	液固吸附色谱	纸固定相	纸色谱
		分子大小	凝胶或尺寸排阻色谱	薄层固定相	薄层色谱
		离子交换能力	离子交换色谱	柱内固定相填充	填充色谱
		亲和力	亲和色谱	色谱柱中空	空心柱色谱
		电泳及电渗输送	电泳	流动相采用高压输体	高压液相色谱

四、几个重要色谱参数的计算及测定方法

（一）保留时间和保留体积

从进样开始到柱后出现组分浓度最大值所需的时间为保留时间（t_R），而在保留时间内冲洗剂流过的体积为保留体积（V_R）。流出时间与流动相流速成反比，保留时间和保留体积呈正比例关系。在色谱柱内不保留组分的流出时间为死时间（t_0），死时间不仅与柱结构有关，而且也与进样系统和检测系统有关。当柱外体积可以忽略不计时，死体积（V_0）等于柱内流动相所占有的体积，以 V_m 表示，对于不同的色谱模式，下式皆成立

$$V_R = V_m + k \cdot V_s \tag{1-1}$$

分配系数 k 定义为

$$k = \frac{n_s V_m}{n_m V_s} \tag{1-2}$$

式中，n_s、n_m 分别为溶质在固定相和流动相中的量。

调整保留时间（t_R'）为溶质的保留时间中扣除死时间得到的结果，能更确切地反映溶质在柱过程中被保留的特征。对应地，溶质保留体积与死体积之差为调整保留体积（V_R'）。

$$t_R'=t_R-t_0 \tag{1-3}$$

$$V_R'=V_R-V_m \tag{1-4}$$

色谱操作条件一定时，不同物质有其特定的保留值，这也是色谱定性的基本依据。

色谱法中广泛采用的另一个保留值参数是容量因子（k'）。定义为样品组分在固定相和流动相中量的比值

$$k'=\frac{n_s}{n_m} \tag{1-5}$$

结合另外几种保留值参数的定义式，可以得到他们之间的相互关系

$$k=k'\frac{V_m}{V_s} \tag{1-6}$$

$$k'=\frac{t_R-t_0}{t_0}=\frac{t_R'}{t_0}\text{或 } t_R=t_0(1+k') \tag{1-7}$$

液相色谱中，由于流动相参与了溶质的分配过程，因此样品组分的保留值不仅与固定相的性质和柱温有关，而且与流动相的组成和性质有关，但与流动相流速及柱尺寸无关。

液相色谱中死时间的测定相当于气相色谱而言要复杂得多。这是因为一方面很难找到在固定相上完全不保留、而有足够紫外响应信号的惰性溶质用于死时间测定；另一方面由于空间排斥作用，一些较大的分子不能进入固定相微孔中，可能在真实死时间前流出，不易判断。液相色谱中一般常用下面几种方法：

① 在用混合溶剂作流动相时，以在检测器上有显著信号的纯溶剂作为测定死时间的物质。

② 在全浓度范围内连续变化流动相组成，以蛋白质保留值最小的保留时间作为死时间。

③ 在正相色谱中，采用紫外检测器时，四氯乙烯可作为惰性溶质。反相色谱中也可采用苯甲酸、硝酸、亚硝酸或高氯酸等作为惰性溶质。

④ 采用比流动相溶剂分子少一个—CH_2—基团的同系物测定。如正己烷为流动相溶剂时，可以采用戊烷测定死时间。

⑤ 用放射性标记的方法测定。如以水为流动相溶剂时可以采用重水为标记物进行测定。

在实验条件不具备或需要作某些估算时，可采用公式（1-8）计算。

$$t_0=\frac{\text{空柱管体积}\times\text{柱总孔隙度}(\varepsilon_T)}{\text{流动相体积流量}(F_c)} \tag{1-8}$$

计算准确程度与柱径的均匀程度、填充的紧密程度及柱外死体积所占的比例有关。对于填充良好的色谱柱，全孔硅胶为基质的填料，$\varepsilon_T=0.82\sim0.85$；而薄壳型填料，$\varepsilon_T\approx0.4$。

（二）柱效能总指标

色谱过程中，柱效能是溶柱分离能力的度量。主要由操作参数和动力学因素决定。一般可通过测定色谱柱的塔片数、分离度等评价。

假设溶质谱带的分布满足高斯分布，理论塔片数（N）定义为

$$N=\left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 \tag{1-9}$$

式中 σ 为方差。

采用上式计算不很方便，可以将其改写成

$$N=5.54\left(\frac{t_R}{w_{1/2}}\right)^2 \tag{1-10}$$

或

$$N=16\left(\frac{t_R}{w_b}\right)^2 \tag{1-11}$$

定义理论塔片高度（H）为单位理论塔片所占据的色谱柱长度（L），即

$$H=\frac{L}{N} \tag{1-12}$$

而考虑到样品在通过柱内孔隙体积时，并不与固定相发生质量交换，采用调整保留时间计算塔片数更为合理，如此得到有效塔片数（N_{eff}）

$$N_{eff}=\left(\frac{t'_R}{\sigma}\right)^2=5.54\left(\frac{t'_R}{w_{1/2}}\right)^2=16\left(\frac{t'_R}{w_b}\right)^2 \tag{1-13}$$

或

$$N_{eff}=N\left(\frac{k'}{1+k'}\right)^2 \tag{1-14}$$

当 k' 较小时，理论塔片数与有效塔片数相差较大，而当 k' 较大时，两者相差较小。

单位有效塔片所占据的色谱柱长度为有效塔片高度（H_{eff}），即

$$H_{eff}=\frac{L}{N_{eff}}=H\left(\frac{1+k}{k}\right)^2 \tag{1-15}$$

相邻两峰保留时间之差与半高峰宽之和（$\Delta t_{1/2}$）的比值称为分离效能总指标（K_1）

$$K_1=\frac{t_R(2)-t_R(1)}{\Delta t_{1/2}(1)+\Delta t_{1/2}(2)} \tag{1-16}$$

由于两峰相邻时，近似地有 $\Delta t_{1/2}(1)=\Delta t_{1/2}(2)$，因此

$$K_1=\frac{t_R(2)-t_R(1)}{2\Delta t_{1/2}} \tag{1-17}$$

两组分保留值之差与其平均峰宽值之比

$$R=\frac{2(t_{R_2}-t_{R_1})}{w_{b_1}+w_{b_2}} \tag{1-18}$$

也可用于表示两相邻色谱峰的分离程度。由于两峰相邻 $w_{b_1}\approx w_{b_2}$，因此

$$R=\frac{t_{R_2}-t_{R_1}}{w_b} \tag{1-19}$$

R 与 K_1 之间的关系为

$$K_1=0.59R \tag{1-20}$$

为了判别一个组分存在，在色谱图上至少需要有一个表示其存在的肩峰。如图1-1，定义峰高分离度（K_2）

$$K_2=\frac{C_{max}-C_i}{C_{max}} \tag{1-21}$$

式中，C_{max}为两峰中较矮组分的峰高；C_i为峰谷高。

一般认为只要 $K_2\geq5\%$ 就可以满足色谱定性的要求。

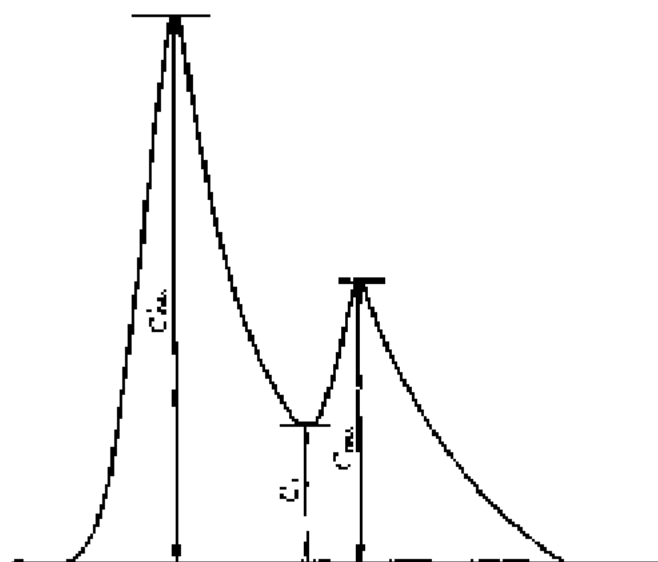


图1-1 K_2的定义

为了使总分离效能指标能直接与所分析组分的多少相关联，可以采用峰容量（P）来评价色谱柱。色谱峰容量即为色谱条件一定时，在指定的时间内，能够在色谱柱中流出的满足分离度要求的等高色谱峰的个数。

$$P=\frac{\ln(1+k'_{n+1})}{\ln(2.35K_1/\sqrt{n}+1)}+1 \qquad (1\text{-}22)$$

（三）谱带扩张

由于纵向扩散、传质阻力等因素的影响，组分在色谱柱内迁移过程中谱带宽度增加的现象称为谱带扩张。

色谱系统中，谱带扩张可以分为柱内扩张和柱外扩张两部分[16]

$$\sigma^2=\sigma^2_{柱外}+\sigma^2_{柱内} \qquad (1\text{-}23)$$

柱外谱带扩张又称"柱外效应"，指从进样点到检测池间除色谱柱以外的所有死空间导致的谱带变宽，包括进样器、连接管、检测池等因素。

$$\sigma^2_{柱外}=\sigma^2_{进样}+\sigma^2_{连接管}+\sigma^2_{柱头}+\sigma^2_{检测池}+\sigma^2_{其他} \qquad (1\text{-}24)$$

由于液体的扩散系数很低，冲洗剂流量很少，因此柱外效应在液相色谱中十分明显，对于细内径柱尤为突出。柱内因素引起的谱带扩张现象为柱内谱带扩张，主要包括涡流扩散、分子扩散、内扩散传质、固相传质等几部分。

涡流扩散指由于固定相颗粒对流动相流动的阻滞，使其不断改变流动方向，从而使组分在流动相中形成紊乱的类似于管路输运中涡流流动的现象，涡流扩散使组分的谱带的展宽正比于填料的颗粒度（d_p）

$$H_{涡流扩散}=2\lambda d_p \qquad (1\text{-}25)$$

式中，λ 为填充不规则因子，反映了柱内固定相填充的不均匀程度。

分子扩散指组分在柱过程中存在的浓差梯度引起的扩散，它服从爱因斯坦扩散方程

$$H_{分子扩散}=2\gamma D_m \qquad (1\text{-}26)$$

式中，γ 为与扩散有关的常数，D_m 为溶质在流动相中的扩散系数。

流动相流速不太低的情况下，$H_{分子扩散}$很小，在计算谱带扩张时一般可忽略。

流型扩散指由于流动相在径向存在速度梯度，进而引起的质量输运现象。

$$H_{流型扩散}=\frac{c_m d_p^2 u}{D_m} \qquad (1\text{-}27)$$

式中，c_m为流型有关的常数；u 为流动相线速。

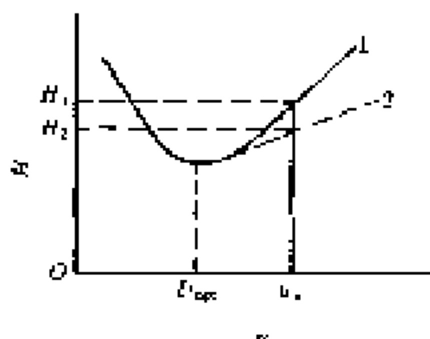


图 1-2 板高和流速的关系
1—由 Van Deemter 方程曲线；
2—Van Deemter 方程拟合其曲线

内扩散传质指在吸附剂孔隙内，流动相液体相对静止，组分进入其中通过扩散进行的传质过程

$$H_{内扩散传质}=\frac{c_{sm}d_p^2 u}{D_m} \qquad (1\text{-}28)$$

式中，c_{sm}为与颗粒内孔的传质阻力有关的常数。

固相传质指组分从流动相和固定相界面到固定相内部及返回的传质过程。

$$H_{固相传质}=\frac{c_s d_f^2 u}{D_s} \qquad (1\text{-}29)$$

式中，c_s 为与固定相传质阻力有关的常数。

综合(1-21)～(1-29)式，可以得到修正的 Van Deemter

方程

$$H=\frac{\sigma^2_{总}}{L}=2\lambda d_p-\frac{2\gamma D_m}{u}+\frac{c_m d_p^2 u}{D_m}-\frac{c_{sm} d_p^2 u}{D_{sm}}+\frac{c_s d_f^2 u}{D_s} \tag{1-30}$$

式中，c_m、c_{sm}、c_s 分别为与流动相、颗粒内孔的传质阻力和固定相传质阻力有关的常数。

塔片高度与流动相流速之间的关系如图 1-2 所示。

第二节　常用术语及符号

本节参照文献［11］、［12］列出了液相色谱常用符号、术语及对应的英文名称。在本系列手册气相色谱分册[10]中已列出的色谱常用术语，一般不再重复，但考虑到系统的完整性，这里对某些重要概念再次给出相应说明。电泳中常用符号及术语将在相关部分介绍，不包括在其中。

一、色谱曲线

（1）色谱图（chromatogram）　色谱柱流出物通过检测器系统时所产生的响应信号对时间或流动相流出体积的曲线图，或者通过适当方法观察到的纸色谱或薄层色谱斑点、谱带的分布图。

（2）（色谱）峰（chromatographic peak）　色谱柱流出组分通过检测器系统时所产生的响应信号的微分曲线。

（3）峰底（peak base）　峰的起点与终点之间连接的直线（图 1-3 中的 CD）。

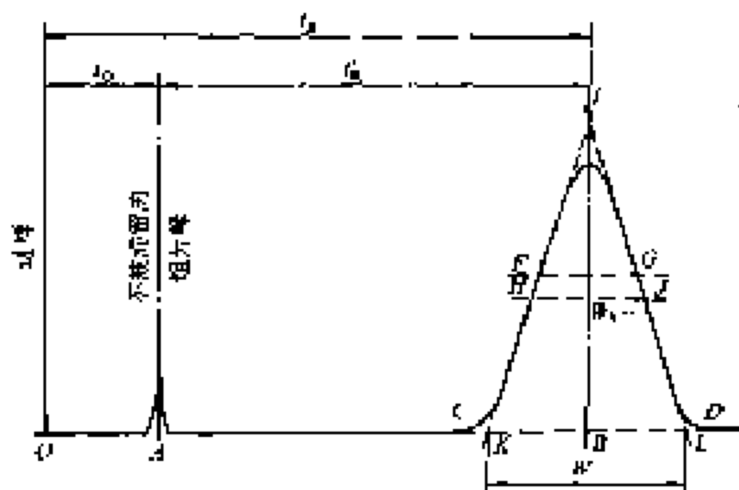


图 1-3　色谱图

（4）峰高（h，peak height）　色谱峰最大值点到峰底的距离（图 1-3 中的 BE）。

（5）峰宽（W，peak width）　在峰两侧拐点（图 1-3 中的 F、G）处所作切线与峰底相交两点间的距离（图 1-3 中的 KL）。

（6）半高峰宽（$W_{h/2}$，peak width at half height）　通过峰高的中点作平行于峰底的直线，此直线与峰两侧相交两点之间的距离（图 1-3 中的 HJ）。

（7）峰面积（A，peak area）　峰与峰底之间的面积（图 1-3 中的 $CHEJDC$）。

（8）拖尾峰（tailing peak）　后沿较前沿平缓的不对称的峰。

（9）前伸峰（leading peak）　前沿较后沿平缓的不对称的峰。

（10）假峰（ghost peak）　除组分正常产生的色谱峰以外，由于仪器条件的变化等原因

而在谱图上出现的色谱峰，即并非由试样所产生的峰，这种色谱峰并不代表具体某一组分，容易给定性、定量带来误差。

（11）畸峰（distorted peak） 形状不对称的色谱峰。前伸峰、拖尾峰都属于这类。

（12）反峰（negative peak） 也称倒峰或负峰，即出峰的方向与通常的方向相反的色谱峰。

（13）拐点（inflection point） 色谱峰上二阶导数等于零的点。

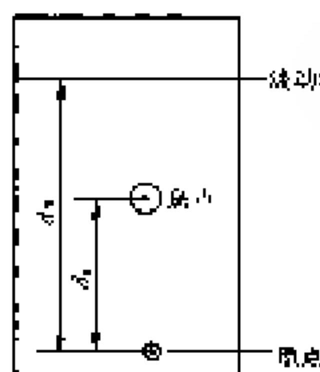


图 1-4 薄层展开图

（14）原点（origin） 纸或薄层板上滴加试样部位的中心点（图 1-4）。

（15）斑点（spot） 平面色谱法中，组分在展开和显谱后呈现近似圆形或椭圆形的色区（图 1-4）。

（16）区带（zone） 在色谱柱、纸或薄层板上被分离组分所占有的区域。

（17）复斑（multiple spot） 一种组分展开后形成的两个或多个清晰斑点。

（18）区带拖尾（zone tailing） 由于物理、化学等作用的影响，一种组分在展开后形成的彗星形状斑点。

（19）基线（base line） 在正常操作条件下，仅有流动相通过检测器系统时所产生的响应信号的曲线。

（20）基线漂移（baseline drift） 基线随时间定向的缓慢变化。

（21）基线噪声（N，baseline noise） 由于各种原因而引起的基线波动。

（22）统计矩（moment） 色谱流出曲线是组分在检测器中浓度或质量依时间的统计分布曲线，响应值对应于分布密度。组分在柱内迁移时间 r 次幂的数学期望称为流出曲线的 r 阶原点矩。而组分在柱内迁移时间与平均迁移时间差的 r 次幂的数学期望称为流出曲线的 r 阶中心矩。

（23）一阶原点矩（γ_1，first origin moment） 组分在柱内迁移时间的数学期望，当流出曲线为对称峰时，即为组分的保留时间。

（24）二阶中心矩（μ_2，second central moment） 二阶中心矩为流出曲线的方差。定义为

$$\mu_2 = E(t - Et)^2 \tag{1-31}$$

式中，E 代表平均。

（25）三阶中心矩（μ_3，third central moment） 定义为

$$\mu_3 = E(t - Et)^3 \tag{1-32}$$

可以表示流出曲线的不对称程度。峰形对称时 $\mu_3 = 0$，前伸峰 $\mu_3 < 0$，而拖尾峰 $\mu_3 > 0$。

二、分离模式

（1）液相色谱法（liquid chromatography，LC） 用液体作为流动相的色谱法。

（2）液液色谱法（liquid liquid chromatography，LLC） 将固定液涂渍在载体上作为固定相的液相色谱法。

（3）液固色谱法（liquid solid chromatography，LSC） 用固体（一般指吸附剂）作为固定相的液相色谱法。

（4）正相液相色谱法（normal phase liquid chromatography） 固定相的极性较流动相的

极性强的液相色谱法。

(5) 反相液相色谱法 (reversed phase liquid chromatography, RPLC)　固定相的极性较流动相的极性弱的液相色谱法。

(6) 柱液相色谱法 (liquid column chromatography)　在柱管内进行组分分离的液相色谱法。

(7) 高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)　具有高分离效能的柱液相色谱法。

(8) 尺寸排除色谱法 (size exclusion chromatography, SEC)　用化学惰性的多孔性物质作为固定相，试样组分按分子体积（严格来讲是流体力学体积）进行分离的液相色谱法。

(9) 凝胶过滤色谱法 (gel filtration chromatography)　水或水溶液作为流动相的体积排除色谱法。

(10) 凝胶渗透色谱法 (gel permeation chromatography, GPC)　有机溶剂作为流动相的体积排除色谱法。

(11) 亲和色谱法 (affinity chromatography)　用连接在基体上的配位体作为固定相，使其与蛋白质或其他大分子发生可逆的高选择性的相互作用，利用不同亲和力进行分离的液相色谱法。

(12) 离子交换色谱法 (ion exchange chromatography, IEC)　以离子交换作用分离离子型化合物的液相色谱法。

(13) 离子色谱法 (ion chromatography)　以含有某种特定离子的水溶液作为流动相，流出液通过抑制柱（或不通过抑制柱），在降低流动相背景信号的条件下用于分离离子的液相色谱法。

(14) 离子抑制色谱法 (ion suppression chromatography)　通过调解流动相的 pH 值来抑制试样组分的电离，以分离离子型化合物的液相色谱法。

(15) 离子对色谱法 (ion pair chromatography)　用形成离子对化合物进行分离的液相色谱法。

(16) 疏水作用色谱法 (hydrophobic interaction chromatography)　用适度疏水性的固定相，以含盐的水溶液作为流动相，借疏水作用分离生物大分子化合物的液相色谱法。

(17) 制备液相色谱法 (preparative liquid chromatography)　用能处理较大量试样的色谱系统，进行分离、切割和收集组分，以提纯化合物的液相色谱法。

(18) 平面色谱法 (planar chromatography)　在平面介质上进行组分分离的色谱法，也称平板色谱法。

(19) 纸色谱法 (paper chromatography)　用纸作为固定相或载体的平面色谱法。

(20) 薄层色谱法 (thin layer chromatography, TLC)　用载板上涂布或烧结一薄层物质作为固定相的平面色谱法。

(21) 高效薄层色谱法 (high performance thin layer chromatography, HPTLC)　用高分离效能薄层板的色谱法。

(22) 浸渍薄层色谱法 (impregnated thin layer chromatography)　用浸渍在薄层板上的有机或无机物质作为固定相的薄层色谱法。

(23) 凝胶薄层色谱法 (gel thin layer chromatography)　用溶胀的凝胶作为固定相的薄层色谱法。

(24) 离子交换薄层色谱法 (ion exchange thin layer chromatography) 用离子交换剂作为固定相的薄层色谱法。

(25) 制备薄层色谱法 (preparative thin layer chromatography) 在载板上增加薄层的厚度，使其能处理较大量试样，以提纯化合物的薄层色谱法。

(26) 薄层棒色谱法 (thin layer rod chromatography) 在石英棒或石英管外壁上涂布一薄层物质作为固定相的薄层色谱法。

三、仪 器

(1) 液相色谱仪 (liquid chromatograph) 液相色谱法用的装置。

(2) 制备液相色谱仪 (preparative liquid chromatograph) 制备液相色谱法用的装置。

(3) 凝胶渗透色谱仪 (gel permeation chromatograph) 凝胶渗透色谱法用的装置。

(4) 涂布器 (spreader) 将固定相及粘合剂等制成的浆状物均匀地涂布成薄层板或棒的装置。

(5) 点样器 (sample applicator) 能定量地将试样加在纸、薄层板或棒上的器件。

(6) 色谱柱 (chromatographic column) 内有固定相用以分离混合组分的柱子。

(7) 棒状色谱柱 (monolith column) 以多孔床层作为固定相的色谱柱。

(8) 微粒柱 (microparticle column) 柱填充剂颗粒平均直径为不大于 15 μm 的色谱柱。

(9) 填充毛细管柱 (packed capillary column) 填充微粒固定相的毛细管柱。

(10) 空心柱 (open tubular column) 内壁有固定相的开口的毛细管柱。

(11) 微径柱 (microbore column) 柱管内径不大于 1 mm 的色谱柱。

(12) 混合柱 (mixed column) 填充有两种或两种以上混合固定相的色谱柱。

(13) 组合柱 (coupled column) 串联或并联不同性能的固定相的色谱柱。

(14) 预柱 (precolumn) 置于色谱柱前内有填充剂的柱管，如保护柱、预饱和柱、浓缩柱等。

(15) 保护柱 (guard column) 用于除去有害物质，以延长柱寿命的预柱。

(16) 预饱和柱 (presaturation column) 使流动相在进入色谱柱前被固定液饱和，以防止色谱柱内固定液流失而具有较高固定液含量的预柱。

(17) 浓缩柱 (concentrating column) 用以富集痕量组分的预柱。

(18) 抑制柱 (suppression column) 离子色谱法中，利用离子交换反应抑制色谱柱后流出液中流动相的高电导率离子的柱管。

(19) 薄层板 (thin layer plate) 涂布有固定相薄层的载板。

(20) 浓缩区薄层板 (concentrating thin layer plate) 前段涂布惰性物质，后段涂布固定相的薄层板。

(21) 荧光薄层板 (fluorescence thin layer plate) 涂布的固定相薄层中加有荧光物质的薄层板。

(22) 反相薄层板 (reversed phase thin layer plate) 用非极性物质浸渍或用非极性的化学键合相涂布的薄层板。

(23) 梯度薄层板 (gradient thin layer plate) 用两种不同极性的固定相，其比例在单一方向上呈梯度变化，而涂布成的薄层板。

(24) 烧结板 (sintered plate) 将固定相烧结在载板上，供反复使用的薄层板。

(25) 展开室 (development chamber) 平面色谱法中展开时使用的容器。

(26) 往复泵 (reciprocating pump) 用电动机驱动活塞在液缸内作往复运动，从而输送流动相的部件。

(27) 注射泵 (syringe pump) 用电动机驱动，液缸内活塞以一定的速率向前推进，从而输送流动相的部件。

(28) 气动泵 (pneumatic pump) 用气体作动力驱动活塞输送流动相的部件。

(29) 蠕动泵 (peristaltic pump) 用挤压富有弹性的软管的方式，来输送流动相的部件。

(30) 检测器 (detector) 能检测色谱柱流出组分及其量的变化的器件。

(31) 微分检测器 (differential detector) 响应值取决于组分瞬时量的检测器。

(32) 积分检测器 (integral detector) 响应值取决于组分累积量的检测器。

(33) 总体性能检测器 (bulk property detector) 响应值取决于流出液某些物理性质的总变化的检测器。

(34) 溶质性能检测器 (solute property detector) 响应值取决于流出液中组分的物理或化学特性的检测器。

(35) (示差) 折光率检测器 ([differential] refractive index detector) 利用流出液和流动相之间折光率的差异而产生电信号的器件。

(36) 荧光检测器 (fluorescence detector) 利用组分在光源激发下发射荧光而产生电信号的器件。

(37) 紫外可见光检测器 (ultraviolet visible detector) 利用组分在紫外可见光的波长范围内有特征吸收而产生电信号的器件。

(38) 电化学检测器 (electrochemical detector) 通过色谱柱流出液的电化学过程而产生电信号的器件。

(39) 蒸发 (激光) 光散射检测器 ([laser] light scattering detector) 利用激光器作光源，测量高分子溶液散射光强度的电信号的器件，是一种分子量检测器。

(40) 光密度计 (densitometer) 利用一定波长和强度的光束照射在纸或薄层板上展开的斑点，以测量透射或反射光强度变化的器件。

(41) 薄层扫描仪 (thin layer scanner) 在平面色谱法中，对展开的斑点进行扫描测量的光密度计。

(42) 柱后反应器 (post-column reactor) 对色谱柱流出组分进行化学反应的器件。

(43) 体积标记器 (volume marker) 在体积排除色谱法中，标记洗脱体积的记录或计数的器件。

(44) 记录器 (recorder) 记录由检测系统所产生的随时间变化的电信号的仪器。

(45) 积分仪 (integrator) 按时间累积检测系统所产生电信号的仪器。

(46) 馏分收集器 (fraction collector) 可按时间或体积收集色谱柱流出液的装置。

(47) 工作站 (work station) 记录并处理色谱信号、数据的装置。

四、固定相和流动相

(1) 固定相 (stationary phase) 色谱柱内、薄层板、薄层棒或纸上（包括纸本身）不移动的、起分离作用的物质。

(2) 固定液 (stationary liquid) 固定相的组成部分，指涂渍在载体表面起分离作用的

物质。

(3) 载体 (support)　负载固定液的惰性固体物质。

(4) 柱填充剂 (column packing)　用于填充色谱柱的粒状固定相，或连续床固定相。

(5) 化学键合相填充剂 (chemically bonded phase packing)　用化学反应在载体表面键合特定基团的填充剂。

(6) 薄壳型填充剂 (pellicular packing)　在惰性核表面有一均匀多孔薄层的填充剂。

(7) 多孔型填充剂 (porous packing)　颗粒表面的孔延伸到颗粒内部的填充剂。

(8) 吸附剂 (adsorbent)　具有吸附活性并用于色谱分离的固体物质。

(9) 离子交换剂 (ion exchanger)　一种具有可交换离子的聚合电解质，能参与溶液中离子的交换作用而不改变本身的一般物理特性。

(10) 基体 (matrix)　负载亲和配位体或其他活性基团的固体物质。

(11) 载板 (support plate)　负载固定相薄层的平面介质(一般为玻璃、金属或塑料板)。

(12) 粘合剂 (binder)　使固定相或载体粘附在载板上的添加物。

(13) 流动相 (mobile phase)　在液相色谱中用以携带试样以及展开或洗脱组分的液体。

(14) 洗脱(淋洗)剂 (eluant, eluent)　在柱液相色谱法中用作流动相的液体。

(15) 展开剂 (developer)　在平面色谱法中用作流动相的液体。

(16) 等水溶剂 (isohydric solvent)　在液相色谱法中，调配一定含水量的、不引起吸附剂活性变化的流动相。

(17) 改性剂 (modifier)　加入流动相中能改变分离性能的少量试剂或溶剂。

(18) 显色剂 (color [developing] agent)　在纸或薄层板上使组分产生颜色的试剂。

五、色谱参数

(1) 死时间 (t_0, dead time)　不被固定相滞留的组分，从进样到出现峰最大值所需的时间 (图 1-5)。

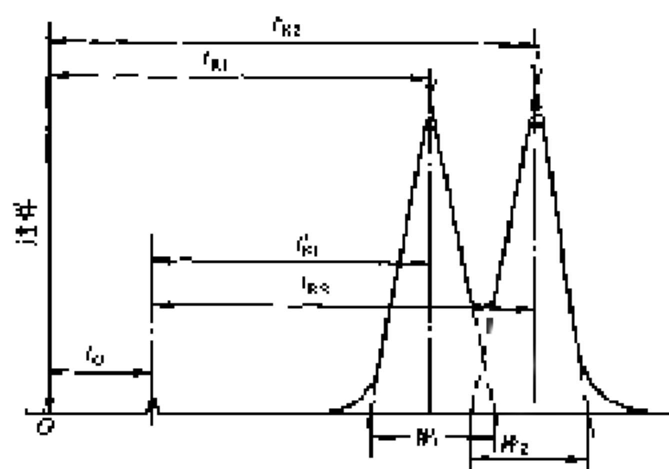


图 1-5　色谱参数

(2) 保留时间 (t_R, retention time)　组分从进样到出现峰最大值所需的时间 (图 1-5)。

(3) 调整保留时间 (t'_R, adjusted retention time)　减去死时间的保留时间 (图 1-5 中 t'_{R_1}、t'_{R_2})。

(4) 死体积 (V_M, dead volume)　不被固定相滞留的组分，从进样到出现峰最大值所需的流动相体积。

$$V_M = t_M \times F_c \qquad (1\text{-}33)$$

(5) 保留体积 (V_R, retention volume)　组分从进样到出现峰最大值所需的流动相的体积。

$$V_R = t_R \times F_c \qquad (1\text{-}34)$$

(6) 调整保留体积 (V'_R, adjusted retention volume)　减去死体积的保留体积。

(7) 柱外体积 (V_{ec}, extra-column volume)　从进样系统到检测器之间色谱柱以外的液

路部分中流动相所占有的体积。

(8) 粒间体积(V_0, interstitial volume) 色谱柱填充剂颗粒间隙中流动相所占有的体积。

(9) (多孔填充剂的)孔体积(V_p, pore volume of porous packing) 色谱柱中多孔填充剂的所有孔洞中流动相所占有的体积。

(10) 液相总体积(V_{tl}, total liquid volume) 粒间体积、孔体积和柱外体积之和。

$$V_{tl}=V_0+V_p+V_{ex} \quad (1\text{-}35)$$

(11) 洗脱体积(V_e, elution volume) 从进样开始计算的通过色谱柱的实际洗脱剂体积。

(12) 流体力学体积(V_h, hydrodynamic volume) 每摩尔的高分子化合物在溶液中运动时所占有的体积，与高分子化合物的分子量 M 和特性粘度的乘积成正比。

$$V_h \infty [\eta] \times M \quad (1\text{-}36)$$

(13) 相对保留值($r_{i,s}$, relative retention value) 在相同操作条件下，组分与参比组分的调整保留值之比。

$$r_{i,s}=\frac{t'_{R(i)}}{t'_{R(s)}}=\frac{V'_{R(i)}}{V'_{R(s)}} \quad (1\text{-}37)$$

(14) 分离因子(α, separation factor) 在相同操作条件下，两个相邻组分的调整保留值之比。液相色谱中，考虑到死时间不易测定，此外具有不同容量因子溶质的理论塔板数基本相同，因此常直接用保留时间之比考察相邻两峰的分离。

(15) 流动相迁移距离(d_m, mobile phase migration distance) 原点至流动相前沿之间的距离(图 1-6)。

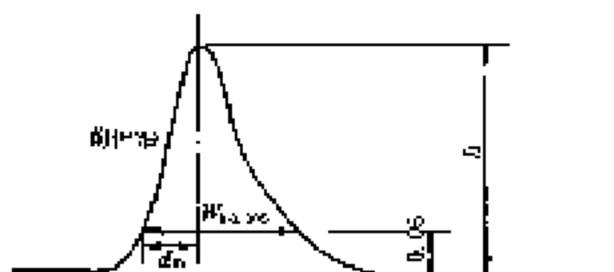


图 1-6 色谱峰形

(16) 流动相前沿(mobile phase front) 由于毛细管作用，流动相沿纸或薄层板移动的前沿，一般是平行于流动相液面的直线(图 1-4)。

(17) 溶质迁移距离(d_s, solute migration distance) 原点至溶质斑点中心之间的距离(图 1-4)。

(18) 比移值(R_f, R_f value) 平面色谱法中，溶质迁移距离与流动相迁移距离之比。

$$R_f=\frac{d_s}{d_m} \quad (1\text{-}38)$$

(19) 高比移值(hR_f, high R_f value) 比移值乘以 100 的值。

$$hR_f=R_f\times 100 \quad (1\text{-}39)$$

(20) 相对比移值($R_{i,s}$, relative R_f value) 组分与参比物质的比移值之比。

$$R_{i,s}=\frac{R_{f(i)}}{R_{f(s)}} \quad (1\text{-}40)$$

(21) 保留常数值(R_m, R_m value) 与化合物的 R_f 值有关，表示化合物结构与色谱行为之间的关系。

$$R_m=\lg\left(\frac{1}{R_f}-1\right) \quad (1\text{-}41)$$

(22) 板效能(plate efficiency) 薄层板在色谱分离过程中由动力学因素所决定的分离效能，通常用理论板数、理论板高或板数每秒表示。

(23) 折合板高（h_r，reduced plate height） 折合成固定相单位粒径的理论板高。

$$h_r=\frac{H}{d_p} \tag{1-42}$$

(24) 分离度（R，resolution） 两个相邻色谱峰的分离程度，以两个组分保留值之差与其平均峰宽值之比表示（图 1-5）。

(25) 液相载荷量（liquid phase loading） 在填充柱中，固定液与固定相（包括固定液和载体）的相对量，用质量百分数表示。

(26) 离子交换容量（ion exchange capacity） 单位质量或体积的离子交换剂中含有可交换的离子的量（单位为 mol）。

(27) 负载容量（loading capacity） 在柱效能下降不超过 10%的情况下色谱柱的最大进样量。

(28) 渗透极限（permeability limit） 在体积排除色谱法中，柱上能够进行分离的高分子化合物最低分子量值。

(29) 排除极限（$V_{e,max}$，exclusion limit） 在体积排除色谱法中，柱上能够进行分离的高分子化合物最高分子量值。

(30) 拖尾因子（T，tailing factor） 在峰高 5%的峰宽与峰极大到前沿之间 2 倍距离之比（图 1-6）。

$$T=\frac{W_{h0.05}}{2d_L} \tag{1-43}$$

(31) 柱外效应（extra-column effect） 从进样系统到检测器之间色谱柱以外的流路部分，由于进样方式、柱后扩散等因素对柱效能所产生的影响。

(32) 管壁效应（wall effect） 组分在流动相内移动的过程中，由于色谱柱中央和边缘部分的流速不一致所产生的径向扩散的影响。

(33) 间隔臂效应（spacer arm effect） 配位体与基体之间连接的间隔臂分子的间隔长度，对配位体与大分子之间的亲和力所产生的影响。

(34) 边缘效应（edge effect） 当使用混合溶剂时，由于同一组分在纸或薄层板的中部与两边缘移动速度不同，致使其 R_f 值不同的现象。

六、其　　他

(1) 斑点定位法（localization of spot） 利用显色剂或其他化学、物理、生物等方法确定每个组分在纸或薄层板上的位置的方法。

(2) 放射自显影法（autoradiography） 利用化合物含放射性同位素，展开后以感光胶片或计数装置确定其在纸或薄层板上位置的方法。

(3) 原位定量（in situ quantitation） 试样经展开后，组分不用转移或洗脱，直接在纸或薄层板上进行定量测定。

(4) 生物自显影法（bioautography） 利用抗生素组分的活性，展开后以细菌培养出现抑菌圈而确定其在纸或薄层板上位置的方法。

(5) 归一法（normalization method） 试样中全部组分都显示出色谱峰时，测量的全部峰值，经相应的校正因子校准并归一后，计算每个组分的百分含量的方法。

(6) 内标法（internal standard method） 在已知量的试样中加入能与所有组分完全分离

的已知量的内标物质。用相应的校正因子校准待测组分的峰值并与内标物质的峰值进行比较，求出待测组分的百分含量的方法。

(7) 外标法 (external standard method)　在相同的操作条件下，分别将等量的试样和含待测组分的标准试样进行色谱分析，比较试样与标准试样中待测组分的峰值，求出待测组分的含量的方法。

(8) 叠加法 (addition method)　测量试样中待测组分及一邻近组分的峰值后，在已知量的试样中加入一定量的待测组分，再测量此两组分的峰值，求出待测组分的百分含量的方法。

(9) 普适校准（曲线、函数）(calibration function or curve [function])　在体积排除色谱法中，用流体力学体积作为分子参数的分离校准曲线或函数。

(10) 谱带扩展（加宽）(band broadening)　由于纵向扩散、传质阻力等因素的影响，使组分在色谱柱内移动的过程中谱带宽度增加的现象。

(11)（分离作用的）校准函数或校准曲线 (universal calibration function or curve [of separation])　在色谱柱的理想工作条件下，用数学函数或曲线形式表示的单分散高分子的分子参数（例如分子量，特性粘度，流体力学体积等）与其保留体积之间的关系。

(12) 加宽校正 (broadening correction)　在体积排除色谱法中，对谱带加宽引起的误差进行的校正。

(13) 加宽校正因子 (broadening correction factor)　对色谱峰的加宽进行校正的数值因子。

(14) 溶剂强度参数 (ε^0, solvent strength parameter)　以溶剂作为流动相时，在选定的吸附剂上的洗脱能力的大小，相当于每一单位面积的吸附剂表面上溶剂的吸附能。

(15) 洗脱序列 (eluotropic series)　根据溶剂强度参数由小到大排列的顺序。

(16) 洗脱(淋洗)(elution)　流动相携带组分在色谱柱内向前移动并流出色谱柱的过程。

(17) 等度洗脱 (isocratic elution)　用单一的或一定组成的流动相连续洗脱的过程。

(18) 梯度洗脱 (gradient elution)　间断地或连续地改变流动相的组成或其他操作条件，从而改变其色谱洗脱能力的过程。

(19)（再）循环洗脱 (recycling elution)　色谱柱流出组分，经过再循环装置又送入色谱柱进行再分离，以增加分离程度的洗脱过程。

(20) 线性溶剂强度洗脱 (linear solvent strength gradient)　流动相中溶剂强度参数较强或较弱的组分的体积百分数随时间或洗脱体积呈线性的变化。

(21) 程序溶剂 (programmed solvent)　按照预定程序连续地或分阶地改变流动相组成的一种技术。

(22) 程序压力 (programmed pressure)　按照预定程序连续地或分阶地增加操作系统压力的一种技术。

(23) 程序流速 (programmed flow)　按照预定程序连续地或分阶地改变流动相移动速度的一种技术。

(24) 展开 (development)　流动相携带组分在纸或薄层板上向前移动，从而使组分得到分离的过程。

(25) 上行展开 (ascending development)　流动相沿纸或薄层板的下端不断地向上移动的展开过程。

(26) 下行展开 (descending development)　流动相沿纸或薄层板的上端不断地向下移动

的展开过程。

(27) 双向展开 (two dimensional development)　将试样滴加在方形的纸或薄层板的一角，流动相沿纸或薄层板的一个方向展开，然后再沿垂直方向作第二次的展开过程。

(28) 环形展开 (circular development)　流动相由纸或薄层板的圆心不断地向四周移动的展开过程。

(29) 离心展开 (centrifugal development)　通过离心力，加速流动相由纸或薄层板的圆心不断地向四周移动的展开过程。

(30) 向心展开 (centripetal development)　流动相由圆形的纸或薄层板的四周不断地向圆心移动的展开过程。

(31) 径向展开 (radial development)　薄层色谱法中，将原点处附近的固定相部分刮去，使流动相只能通过原点附近的狭窄部分不断地向前移动，流动相前沿呈弧形的展开过程。

(32) 多次展开 (multiple development)　流动相移动到纸或薄层板的预定位置后，除去流动相，再用同一流动相或不同的流动相沿此方向多次重复的展开过程。

(33) 分步展开 (stepwise development)　用两种或两种以上不同组成的流动相沿薄层板先后各自移动一定距离的展开过程。

(34) 连续展开 (continuous development)　流动相移动到纸或薄层板的预定位置并不断地除去，能够连续进行的展开过程。

(35) 梯度展开 (gradient development)　间断地或连续地改变流动相组成或其他操作条件的展开过程。

(36) 匀浆填充 (slurry packing)　用适当的溶剂将填充剂配制成匀浆悬浮液，然后在高压下填充色谱柱的方法。

(37) 停流进样 (stop-flow injection)　暂停流动相液流后再注入试样的进样操作。

(38) 阀进样 (valve injection)　试样的计量管连接在输送流动相的进样阀的旁路上，通过阀的切换，使流动相通过计量管注入试样的进样操作。

(39) 柱上富集 (on-column enrichment)　试样通过色谱柱时，使痕量组分在色谱柱上逐渐地增加的一种分离技术。

(40) 流出液 (eluate)　在色谱过程中，通过色谱柱后流出的液体。

(41) 柱上检测 (on-column detection)　利用高灵敏检测技术，对毛细管柱中固定相末端的流出组分直接进行检测，以减少毛细管柱与检测器之间的柱外效应。

(42) 柱寿命 (column life)　色谱柱保持在一定的柱效能条件下使用的期限。

(43) 柱流失 (column bleeding)　固定液随流动相流出柱外的现象。

(44) 显谱 (visualization)　纸和薄层板经展开以后，用适当方法显示色谱图的一系列操作过程。

(45) 活化 (activation)　在一定的温度条件下，加热处理吸附剂使其具有适度活性的过程。

(46) 反冲 (back flushing)　在一些组分洗脱以后，将流动相反向通过色谱柱，使某些组分向相反方向移动的操作。

(47) 脱气 (degassing)　除去流动相中溶解的气体的操作。

(48) 沟流 (channeling)　色谱柱填充层出现开裂的槽沟，使携带组分的流动相顺着槽沟移动，而不能与固定相充分有效接触的现象。

(19) 过载 (overloading)　进样量超出柱容量时，产生不对称峰形的现象。此时溶质在填料上的吸附为非线性吸附，在大多数情况下随进样量增加，溶质的保留时间减少。

参 考 文 献

1　Tswett M. Ber Dtsch Bot Ges, 1906, 24: 316
2　Tswett M. Ber Dtsch Bot Ges, 1906, 24: 384
3　Tswett M. Ber Dtsch Bot Ges, 1907, 25: 1907
4　Kuhn R, Winterstein A, Lederer E. Z Physiol Chem, 1931, 196: 141
5　Tiselius A. Arkiv Kemi Mineral Geol, 1940, 14B(22): 5
6　Tiselius A. Arkiv Kemi Mineral Geol, 1943, 16A(18): 11
7　Martin A J P, Synge R L M. Biochem J, 1941, 35: 1358
8　师治贤，王俊德. 生物大分子的液相色谱分离和制备. 第二版. 北京: 科学出版社, 1996.
9　邹汉法，张玉奎，卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998
10　王俊德，商振华，郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京: 中国石化出版社, 1992. 1
11　GB 9008—88
12　卢佩章. 现代色谱技术词汇. 第二版. 北京: 科学出版社, 1998
13　李浩春. 分析化学手册. 第二版. 第五分册. 气相色谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1999. 15

第二章　柱液相色谱流动相和固定相

第一节　流　动　相

一、概　　述

与气相色谱分离相比较，液相色谱流动相是影响分离的一个非常重要的调节因素。一个理想的液相色谱流动相溶剂应具有低粘度，与检测器兼容性好，样品容易回收，易于得到纯品和低毒性等特征。液相色谱常用的溶剂都是具有适当纯度的商品化有机溶剂。表 2-1 给出了一些常用溶剂的性质。

表 2-1　HPLC 中常用溶剂的性质[1]

溶　剂	UV 吸收下限/nm	折光指数(25℃)	沸点/℃	粘度/mPa·s(20℃)	极性参数 P'	溶剂强度 $\varepsilon°$		水的溶解度/g·g⁻¹	介电常数(20℃)	可压缩性/Pa	空气中允许浓度/mg·m⁻³
						氧化铝	硅胶				
2,2,4-三甲戊烷	197	1.389	99	0.47	0.1	0.01	0.01	0.011	1.94	12	500
正戊烷	195	1.355	36	0.40	0.0	0.00	0.00	0.010	2.05	11	100
正己烷	190	1.372	69	0.30	0.1	0.01	0.01		1.90	16	100
四氯化碳	265	1.457	77	0.90	1.6	0.18	0.11	0.008	2.24	10	15
乙　醚	218	1.350	35	0.24	2.8	0.38	0.38	1.3	4.3	18.6	400
三氯甲烷	245	1.443	61	0.53	4.1	0.40	0.26	0.072	4.8	10.3	10
二氯甲烷	233	1.421	40	0.41	3.1	0.42	0.32	0.17	8.9	9.7	100
甲乙酮	329	1.376	80	0.38	4.7	0.51		23.4	18.5		200
二氧六环	215	1.420	101	1.2	4.8	0.56	0.49	互溶	2.2		100
丙　酮	330	1.356	56	0.30	5.1	0.56		互溶	20.7	12.7	1000
四氢呋喃	212	1.405	66	0.46	4.0	0.45	0.35	互溶	7.6		200
乙酸乙酯	256	1.370	77	0.43	4.4	0.58	0.38	9.8	6.0		400
乙　腈	190	1.341	82	0.34	5.8	0.65	0.50	互溶	37.5	9.7	40
二甲基甲酰胺	268	1.428	153	0.80	6.4			互溶	36.7		
乙　醇	210	1.359	78	1.08	4.3	0.88		互溶	24.6	11.2	1000
正丙醇	205	1.385	97	1.9	4.0	0.82	0.63	互溶	20.3	10	400
水		1.333	100	0.89	10.2	>0.9	>0.73		80	4.7	
乙　酸		1.370	118	1.1	6.0	>0.95	>0.73	互溶	6.2		

二、正相色谱常用洗脱剂

正相色谱中，流动相与固定相间的相互作用越强，溶质吸附就越弱，反之亦然。正相色谱中常用的洗脱剂可以按其吸附强度进行分类，通常以溶剂强度参数 $\varepsilon°$ 值作为溶剂强度的度量，其定义为"单位面积标准吸附剂的吸附能"。表 2-2 列出了正相色谱中以硅胶为吸附剂时某些溶剂的洗脱能力顺序。

正相色谱中样品分子的 k' 值随溶剂 $\varepsilon°$ 值的增加而下降，因此溶剂洗脱能力序列可用于寻找特定的分离问题中最佳的溶剂强度。在正相色谱中，一般采用乙烷、庚烷、异辛烷、苯和二甲苯等有机溶剂作为流动相，往往还加入一定量的四氢呋喃等极性溶剂，即采用多元流动

相的分离模式，特别是三元流动相。这不仅能够更容易找到合适的 ε° 值，还可相应地调节选择性[2]。表 2-3 列出了正相色谱中以硅胶为吸附剂时某些二元流动相的洗脱能力顺序。

表 2-2　部分溶剂的洗脱能力

溶剂	溶剂强度 ε°	溶剂	溶剂强度 ε°	溶剂	溶剂强度 ε°
戊烷	0.00	二氯甲烷	0.32	乙腈	0.50
异辛烷	0.01	四氢呋喃	0.35	异丙醇	0.63
四氯化碳	0.11	乙醚	0.38	甲醇	0.73
氯丙烷	0.22	乙酸乙酯	0.38	水	≥0.73
氯仿	0.26	二噁烷	0.49	乙酸	≥0.73

表 2-3　硅胶柱上液固色谱洗脱剂的溶剂序列

ε°	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	ε°	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
0.00	戊烷	戊烷	戊烷	0.30	25%	82%	33%
0.05	4.5%氯化异丙烷/戊烷	3%二氯甲烷/戊烷	1%苯/戊烷	0.35	56%	5%乙腈/苯	56%
				0.40	2%甲醇/乙醚	11%	
0.10	10%	7%	11%	0.45	4%	31%	
0.15	21%	14%	26%	0.50	8%	乙腈	
0.20	4%乙醚/戊烷	26%	4%乙酸乙酯/戊烷	0.55	27%		
				0.60	50%		
0.25	11%	50%	11%				

为了便于选择合适 ε° 值的溶剂，Saunders[5]介绍了一种混合溶剂在硅胶上的溶剂强度图（如图 2-1 所示）。Meyer 等[4]曾给出了相似的溶剂强度图。图 2-2 中也给出了氰基、二醇柱上有机溶剂混合物的溶剂强度图。

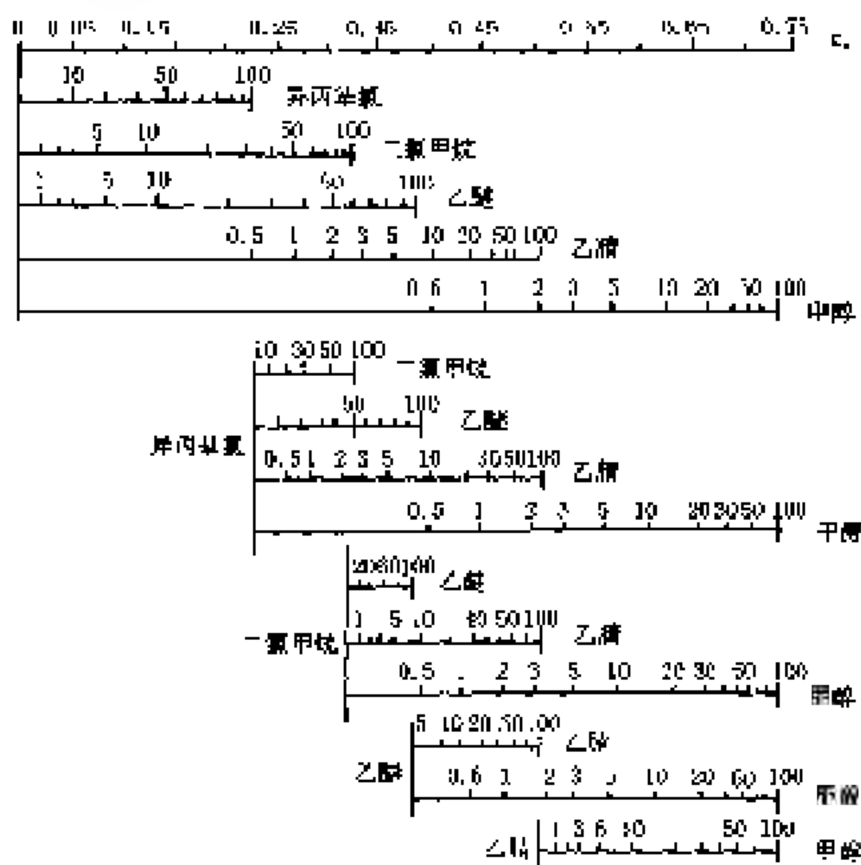


图 2-1　在硅胶柱上某些二元混合溶剂的强度

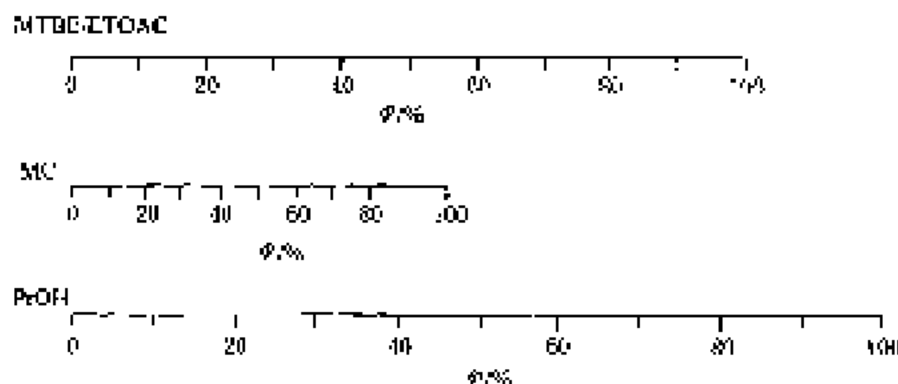


图 2-2 氰基、二醇柱正相 HPLC 溶剂强度图[7]

A 溶剂为己烷，B 溶剂分别为：甲基叔丁基醚（MTBE）、乙酸乙酯（EtOAc）、二氯甲烷（MC）、丙醇（PrOH）

图 2-1 及图 2-2 提供了多种不同的二元混合物的选择方法。图 2-1 中最上部的水平方向表示溶剂强度，其下面的 5 条线代表了戊烷分别与其他 5 种溶剂（氯代异丙烷、二氯甲烷、乙醚、乙腈和甲醇）混合物的溶剂强度；第二组 4 条线分别表示二氯甲烷、乙醚、乙腈、甲醇与氯代异丙烷的混合物；第三组 3 条线则表示氯甲烷分别与乙醚、乙腈、甲醇的混合物；第四组 2 条线表示乙醚与乙腈和甲醇混合物；第五组一条线是乙腈中甲醇的含量，依此可给出 ε 值。可以看出相同强度的正相色谱流动相混合后，溶剂强度通常会改变（变大）。因此，对流动相强度的调整一般需要进行摸索试验。

三、反相色谱常用洗脱剂

反相色谱中常用洗脱剂包括水、乙腈、甲醇和四氢呋喃等，正相色谱中的流动相强度由有机溶剂的浓度和类型共同决定，这种影响见图 2-3。

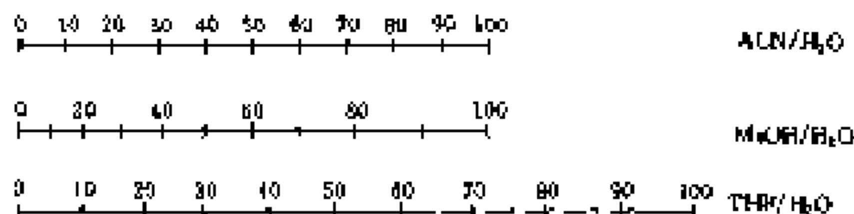


图 2-3 反相色谱溶剂强度图[9,6]

乙腈（ACN）、甲醇（MeOH）、四氢呋喃（THF）三条纵轴上下对应位置具有相同流动相强度，例如：40%ACN 具有与 50%MeOH 和 30%THF 相近的 k' 值和运行时间（文献 [7，8]对这 3 种溶剂的对应溶剂强度的极值与图 2-3 略有不同）。这种溶剂强度图可作为粗略的参考（准确度=5%B）。由图 2-3 洗脱强度的强弱顺序为：水（最弱）<甲醇<乙腈<乙醇<四氢呋喃<丙醇<二氯甲烷（最强），可以看出溶剂的极性随着溶剂强度的增加而降低。

在相同的时间内分离同一样品，甲醇-水作为洗脱剂时其洗脱强度（或配比）与乙腈-水或四氢呋喃-水的洗脱强度（或配比）有如下关系：

$$C_{乙腈}=0.32C_{甲醇}^{2}+0.57C_{甲醇}$$

$$C_{四氢呋喃}=0.66C_{甲醇}$$

式中，$C_{乙腈}$、$C_{甲醇}$、$C_{四氢呋喃}$分别为乙腈、甲醇、四氢呋喃与水混合溶剂的体积百分含量。

除了二氯甲烷与水无法混溶外，上述其他溶剂都可与水混用。二氯甲烷常用来清洗被强

保留样品污染的反相色谱柱。

一般情况下甲醇-水体系能够满足多数样品的分离要求。但乙腈往往是流动相中有机溶剂的首选，这一方面是由于其具有非常低的粘度，另一方面是这种洗脱液可用紫外检测器在低波长（185 nm～210 nm）检测，而这对于许多样品的检测是非常重要的。为了达到更高的塔板数和更低的柱压，除了乙腈之外，较好的有机溶剂是甲醇（MeOH），在次之是四氢呋喃（THF），这 3 种溶剂由于它们在灵敏度控制和分离效果方面的优越性能被广泛使用。

有些强疏水性样品即使采用 100％乙腈仍无法洗脱，需要采用更强的流动相（如高％四氢呋喃-水或四氢呋喃-乙腈）。流动相不含水的分离模式称为非水反相色谱。

四、反相离子对色谱常用洗脱剂

反相离子对色谱法常用洗脱剂的溶剂组成与反相色谱相同，而选择合适的离子对试剂是进行离子对色谱分离的首要条件，表 2-4 列出了常用的离子对试剂及主要应用对象。

表 2-4 反相色谱常用的离子对试剂

离子对试剂	主要应用对象
季铵盐（如四甲铵、四丁铵、十六烷基三甲铵等）	强酸、弱酸、磺酸染料、羧酸、氢化可的松及其盐类
叔胺（如三辛胺）	磺酸盐、羧酸
烷基磺酸盐（如甲基、戊基、己基、庚基、樟脑磺酸盐）	强碱、弱碱、儿茶酚胺、肽、鸦片碱、烟酸、烟酰胺等
高氯酸	可与碱性物质（如有机胺、甲状腺素、取代氨基酸、肽等）生成稳定的离子对
烷基硫酸盐（如辛基、癸基、十二烷基硫酸盐）	与烷基磺酸盐相似，选择性有所不同

一般地说，所选用的离子对试剂的电荷应与被分离样品的电荷相反，对酸性或带负电荷的溶质而言，多选用带有正电荷的季铵盐作为离子对试剂，而对于碱性或带正电荷的溶质，则多选用带负电荷的烷基磺酸盐作离子对试剂。

选择离子对试剂的目的是为了在合适浓度获得色谱柱对试剂的较强吸附。图 2-4(a) 的结果表明色谱柱对离子对试剂的吸附达到最大量（大约 300 μmol · g⁻¹）时曲线趋于水平。若流动相含 40％甲醇，为获得柱最大吸附需要采用较高浓度（>40 mmol · L⁻¹）的离子对试剂。因此，辛烷磺酸盐对于大于 40％甲醇的流动相不太合适，应采用更强保留的离子对试剂（如 C_{10}或 C_{12}磺酸盐等）。

图 2-4(b) 总结了对于含不同浓度甲醇的流动相合适的磺酸盐试剂及其浓度。若流动相浓度为 25％甲醇-水，最好选 C_8 与 C_{10}硫酸盐。采用乙腈或四氢呋喃代替甲醇时，可通过表 2-5 对离子对试剂的类型和浓度进行预测。

表 2-5 阴离子离子对 HPLC 中的溶剂强度关系①

甲醇	乙腈	THF	甲醇	乙腈	THF
5	0	0	60	32	35
10	3	1	70	39	(41)②
20	6	4	80	(46)	(51)
30	13	8	90	(51)	(54)
40	19	11	100	(60)	(76)
50	25	21			

① 例如，若 20％甲醇可获得较好的保留值范围，则 6％乙腈或 4％THF 应具有相近的运行时间。

② 近似值。

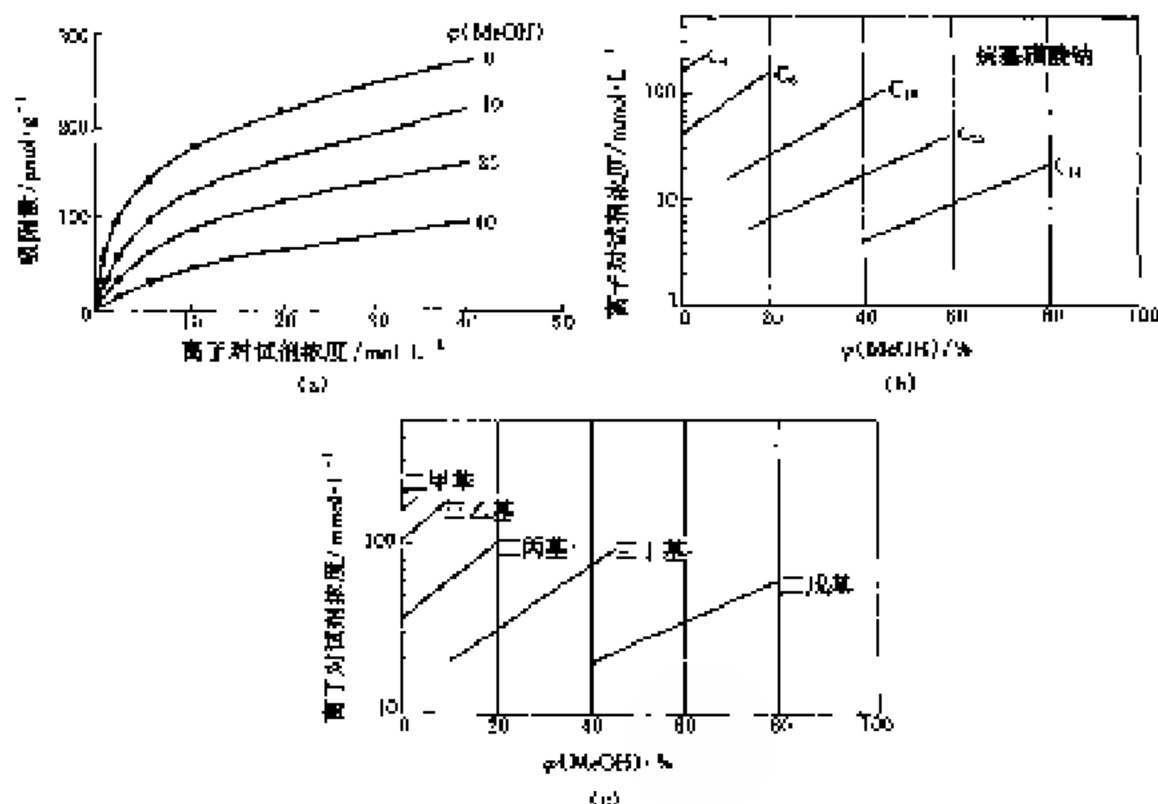


图2-9 离子对类型和浓度的选择与样品类型和流动相强度（φ/%）的关系[12]

条件：甲醇-缓冲，C_{18}柱

(a) C_8磺酸盐吸附与不同有机溶剂浓度的关系；(b) 对不同有机溶剂浓度（碱性样品）烷基磺酸盐类型和浓度的推荐值；(c) 对不同有机溶剂浓度（酸性样品）四烷基铵离子对试剂和浓度推荐值

除了选择合适的离子对试剂外，对反相离子对色谱洗脱剂的 pH 值适当控制对于分离效果也十分重要。表 2-6 列出了某些类型样品离子对洗脱剂的 pH 值范围。由于反相离子对色谱大多采用以硅胶为基质的烷基键合固定相，pH 值范围应控制在 1.5～8.5 范围内，以防止键合相硅胶的降解[41]。

表 2-6 反相离子对色谱洗脱剂的 pH 值范围[1]

溶质类型	流动相 pH 值	说明
强酸(pK_a<2)，如磺酸染料	2～7.4	此类溶质在该 pH 范围都解离，实际选择的 pH 值取决于共存的其他溶质类型
弱酸(pK_a>2)，如氨基酸、羧酸	6～7.4	溶质是解离的，k'取决于离子对的性质
	2～5	溶质的解离被控制，k'取决于未解离溶质的性质
强碱(pK_a>8)，如季铵	2～6	溶质在整个 pH 值范围内解离，类似于强酸
弱碱(pK_a<8)，如儿茶酚胺	6～7.4	溶质解离被控制，k'取决于未解离溶质的性质
	2～5	溶质是解离的，k'取决于离子对的性质

五、离子交换色谱常用洗脱剂

水是优良的溶剂，具有可电离性能，大部分离子交换色谱皆在水溶液中进行，采用水作溶剂的缓冲液可以提供离子平衡的反离子，并使流动相保持一定的离子强度和 pH 值。有时也把少量有机溶剂，如乙腈、甲醇、乙醇和四氢呋喃等，加入到含水系统中，以便改进样品的溶解性能，并提供独特的选择性变化。有机溶剂的加入还可减小某些样品组分的拖尾现象，从

而改善分离。

在以水溶液为流动相的离子色谱中，缓冲液浓度直接影响离子平衡反应。和液固色谱、液液色谱中的情形相类似，缓冲液浓度的增加，会降低样品组分的保留，这是因为流动相中反离子浓度的增加，增强了它与样品离子争夺树脂上离子交换基团的能力，从而减弱了样品组分与离子交换树脂的亲和性。

缓冲液强度的上限取决于流动相中缓冲液盐的溶解性，要避免使用接近饱和的缓冲液浓度，因为若产生盐的沉淀，会造成液相色谱系统的堵塞。其下限由缓冲容量为决定。如果缓冲液太弱，则无法控制流动相的 pH 值。

流动相中的离子类型能对样品分子的保留产生显著的影响，因为不同的流动相离子与离子交换树脂相互作用的能力是不同的。在离子交换色谱中，广泛使用磷酸、乙酸、柠檬酸、硼酸和甲酸的钠盐、钾盐和铵盐，它们通常与其相应的酸相混合，用作缓冲液。一般要尽情避免使用盐酸盐，因其对许多仪器的钢质组件有腐蚀作用。

六、尺寸排阻色谱常用洗脱剂

尺寸排阻色谱中包括排阻和吸附两种分离机制，因此可根据不同的分析样品选择相应的流动相，表 2-7 列出了常用的尺寸排阻色谱流动相。

表 2-7 用于尺寸排阻色谱的流动相

流动相	温度/℃	适用的典型聚合物
水和缓冲剂	室温~65	蛋白质、多肽等
甲苯	室温~70	弹性体和橡胶等
1,1,2,2-四氯乙烷	室温~100	聚氯乙烯、聚苯乙烯等
间甲酚	30~155	聚酯、聚酰胺等
二甲基甲酰胺	室温~85	聚丙烯腈等

缓冲系统的选择应考虑缓冲盐在流动相中的溶解性和缓冲容量。缓冲强度太弱将难于控制流动相的 pH 值。缓冲盐的浓度增加，粘度会相应增大，因此缓冲液强度以适中为宜。

液相色谱用溶剂虽没有统一的规格指标，但一般商品试剂中难免存在一些杂质，使用前应适当纯化。例如，水必须是全玻璃系统二次蒸馏水，在使用电化学或其他高灵敏度检测器时，二次蒸馏设备需要采用石英蒸馏系统，目的在于除去普通蒸馏水或去离子水中的微量尘埃、有机物或无机物杂质及溶解于水中的酸碱气体等。Millipore 公司的纯化设备，包括阴、阳离子交换、活性炭吸附和微膜过滤四个主要净化筒，制出的水在 HPLC 中使用较理想。

第二节 固 定 相

液相色谱按固定相形态分为液液色谱、液固色谱以及最近发展起来的连续床固定相液相色谱几大类。通常所说的液相色谱指液固色谱，但其他几类液相色谱由于其自身的特征，常被用于特殊目的的分离分析过程。

液相色谱固定相按化学组成分类可分为微粒硅胶、高分子微球和微粒多孔碳等类型；按结构和形状分为薄壳型和全孔型，无定型和球型；按填料表面改性与否可分为吸附型和化学键合型；也可以按洗脱模式分成吸附、键合、离子交换和凝胶渗透四类。

一、液液色谱固定相

液液色谱又称分配色谱。固定相由惰性载体上涂渍固定液制成，流动相与载体表面固定

相的接触面积很大。溶质分子在流动相与载体上的固定相之间发生平衡分配。根据各组分在两相间分配作用的差异，实现样品中溶质的相互分离。这一过程与液相萃取的原理类似。由于液液色谱中采用化学惰性固定相，因此，对于许多不稳定的药物采用液液色谱分离可以避免发生异构化和水解等现象。载体上的固定液与流动相的不互溶，它们对试样的溶解能力差异很大。如果溶质在固定液中的溶解度很大，则保留时间会较长，峰展宽严重，检测灵敏度相对降低。相反，溶质在流动相中溶解度很大时，其在柱上将基本不保留。实际操作中，常采用由一种非极性溶剂（如己烷）与一种强极性溶剂（如水）并添加第三组分（如一种作为增溶剂的低级醇）混合而成的三元流动相体系，这种三元流动相可以调整固定液与流动相之间的极性差异，实现不同极性溶质的分离。

液液色谱固定相由载体和固定液两部分组成。

1. 载体

载体起着携带固定液的作用，一般需满足以下要求：

(1) 孔容　载体颗粒的孔容越大，所能浸渍的固定液量越多。孔容达(1～1.4)ml·g⁻¹时，涂渍固定液量可以达到每克载体涂渍固定液 1g。载体上涂渍的固定液越多，则柱中固定液的总量也就越多，柱流失及其对试样组分保留体积的影响也就相对越不明显。

(2) 比表面积　载体比表面积的变化，会对固定相的色谱性能产生很大影响。常用载体的比表面积5～200 $m^2 \cdot g^{-1}$。

(3) 孔径　常用载体的孔径约为(8～15) nm。

2. 固定液

在液液色谱中所采用的固定液，粘度不宜太高。低粘度的固定液扩散系数大，反应速度快，容易获得高的柱效。同时，对于使用紫外检测器的场合，应选用紫外吸收少（或无紫外吸收）的固定液。否则即使只有少量固定液溶于流动相中也可能对检测产生干扰。

从多组分样品中获取已知溶质的分配体系的信息和条件可用于液液色谱体系的选择。在正相色谱中，载体上涂渍极性固定液，流动相采用非极性溶剂。反相色谱则相反。

液液色谱柱的一般寿命约 (4～6) 个月，对互溶性高的体系，柱寿命往往只有 1 个月，因此限制了这种方法的应用，目前只有在一些特殊的场合，或为了某些特殊的目的才采用这种方法。

二、液固色谱固定相

液固色谱又称吸附色谱，是最常用的 HPLC 分离方法，固定相一般为硅胶、氧化铝等吸附剂。溶质在柱中吸附剂上不断进行吸附-解吸循环，由于不同的被测物在吸附剂上吸附作用的差异而获得分离。溶质所带官能团的性质是决定其吸附作用的主要因素，若溶质分子官能团的极性增强或数目增多，在使用极性吸附剂时，分子和极性吸附剂的总的相互作用增强，其相对吸附作用也增强，保留时间加长。

液固色谱中，溶质和固定相间存在两种特殊作用：① 溶质和溶剂分子对吸附剂表面某一位置的竞争作用，这使得溶剂组成的改变由此引起分离情况发生很大变化；② 溶质所带各种官能团与吸附剂表面相应的活性中心之间的相互作用，这种作用与溶质分子的几何形状有关，当官能团的位置与吸附中心相匹配时，作用较强，反之，则作用较弱。因而，不同异构体的相对吸附作用往往会有很大差异，因此，吸附色谱法分离异构体往往比其他色谱法更为优越。

1. 吸附色谱固定相

正相色谱采用的固定相一般是硅胶、氧化铝等极性吸附剂。虽然文献上报道了许多在氧化铝上的数据，但商品化的氧化铝固定相并不多。通常广泛使用的是硅胶基质固定相，表 2-8 列出了部分常用的液固吸附色谱固定相。表 2-9 中也归纳了在这类吸附剂上不同种类溶质分子中的极性官能团与固定相表面活性点之间相互作用的特征。

表 2-8　部分 HPLC 中常用的微粒型吸附剂[1]

商品名称	直径/μm	比表面积/$(m^2 \cdot g^{-1})$	孔径/nm	形状	生产厂家
硅胶					
YWG	5,7,10	300	6~8	非球	青岛海洋化工厂
YQG	5	400	8	球	青岛海洋化工厂
GYQG	3,5	300	10	球	北京化学试剂所
Hypersil	3,5,10	170	10	球	Hypersil
LiChrosorb SI 60	5,10,20	500	6	非球	E. Merck
LiChrosorb SI 100	5,20,30	300	10	非球	E. Merck
LiChrospher SI 100	5,10,15	250	10	球	E. Merck
Nucleosil	5,7,10	300~500	50~100	球	Macherey Nagel
Partisil	5,10,20	400	6	非球	Whatman
μ-Porasil	10	300	10	非球	Waters
Spherisorb-S	5,10,20	220	8	球	Phase separations
Ultrasphere	5			球	Alltech
Vydac TP-101	10	100	33	球	Separations Group
Zorbax-sil	6~8	300	60	球	Du Pont
氧化铝					
LiChrosorb Alox T	5,10	70~90	15	非球	E. Merck
Spherisorb-A	5,10,30	95	15	球	Phase separations

从表 2-8 可见，不同厂家生产的硅胶填料，差别主要在于粒度、形状和比表面积（孔结构）的不同。粒度和形状影响柱效和渗透性，而表面积和孔结构影响溶质的保留值和分离能力。表面积越大，即孔径越小，则溶质的保留值越大，柱效相应有所提高，在一定的范围内对复杂混合物的分离能力增强。在 LSC 中全孔硅胶的比表面积一般为（200~500）$m^2 \cdot g^{-1}$，孔径为（5~10）nm，而对于某些大分子或官能团族分离，宜用数十纳米孔径的吸附剂固定相。

表 2-9　硅胶上官能团吸附强弱的分类

吸附程度	官能团
不吸附	脂肪烃
弱吸附	烯烃、硫醇、硫醚、单环和双环芳烃、卤代芳烃
中等吸附	多环芳烃，醚、腈，硝基化合物和大多数羰基化合物
强吸附	醇、酚、胺、酰胺、亚砜、酸
一般规律	（1）F<Cl<Br<I 化物
	（2）官能团之间的分子内氢键将使保留值减少
	（3）极性基团旁边有庞大烷基存在时，保留值减小
	（4）顺式比反式几何异构体保留值大
	（5）环己烷衍生物和甾体的中位基团比轴端取代基有更强的保留

2. 化学键合固定相

化学键合固定相是借助于化学反应的方法将有机分子以共价键连接在色谱载体上制得的，主要用于反相、正相、疏水作用色谱分离模式中，离子交换、空间排斥和手性分离色谱

中也有应用。据统计，键合相色谱在高效液相色谱的整个应用中占80%以上。制备化学键合固定相，需满足两个必要条件：① 所用的基质材料应具有某种化学反应活性，例如许多3～5价氧化物、微硅胶、氧化铝、硅藻土等表面都存在可以进行化学反应的官能团；② 有机液相分子应含有能与基质表面发生反应的官能团。硅胶（$SiO_2 \cdot xH_2O$）之所以是理想的化学键合相基体，主要由其表面性质所决定。硅胶的体相结构呈硅-氧四面体的晶体点阵，而在表面把这种点阵突然中断。表面硅原子可以通过硅醇基（Si—OH）和失水后的硅氧烷结合，这种硅醇基是进行键合反应的活性官能团，实验表明，硅胶在200℃以下烘干仅能失去物理吸附水，（200～600）℃之间，结合水（即羟基）逐步脱除而出现硅氧烷结构，但硅胶骨架不变，600℃以上时骨架开始变化。硅胶表面上存在足够的可反应硅醇基，再加上硅胶本身的强度好、孔结构和表面积易于人为控制，有较好的化学稳定性等诸多特点，因而成为各种化学键合相的理想基质材料。

化学键合相在高效液相色谱中的应用主要有以下几个优越性。

(1) 在很大程度上减弱了表面活性作用点，清除了某些可能的催化活性。这样就避免了一些复杂样品在表面上的不可逆化学吸附，使得操作简化，峰形对称，对溶剂中微量水分含量的变化要求不苛刻。此外还有，溶剂的残留效应小，梯度冲洗平衡快，和液固吸附色谱相比较，流动相性质比较温和，柱子寿命长。

(2) 耐溶剂冲洗。这是传统的液液分配色谱（LLC）逐渐被键合相色谱取代的根本原因。

(3) 热稳定性好。例如，十八烷基键合相的流失温度在200℃以上。在高效液相色谱中，因为某些分离在高温条件下进行，热稳定性也具有一定的意义。

(4) 表面改性灵活，容易获得重复性的产品。改变键合用的有机硅烷，可以得到不同键合相的填料。

化学键合相的分类可以有不同的依据，仅就目前用得最广的全孔微粒硅胶基质化学键合固定相为例，也有形状（球形和非球形）、粒度、孔结构的区别。根据键合有机分子的结构，硅胶键合固定相可分为Si—O—C键型（硅胶与醇类的反应产物）、Si—N键型（硅胶与胺类的反应产物）、Si—C键型（硅胶与卤代烷反应产物）和Si—O—Si—C键型（硅胶与有机硅烷的反应产物）等几种类型。按键合有机硅烷的官能团结构，Si—O—Si—C键型键合相还可分为非极性、极性和离子交换键合相等几类，表2-10列出了常用的一些有代表性的微粒型化学键合固定相的理化性质。

表2-10 HPLC常用的化学键合固定相及性质

类型		商品名称	官能团	粒度/μm	形状①	简要说明
极性键合固定相	强极性	Nucleosil NMe₂	二甲胺基	5,10	s	也可做弱阴离子交换
		LiChrosorb DIOL	二醇基	10	i	分离肽、酶
		Fe-Sil-X-1	胺乙基	13±5	i	羰基化合物分析
	中等极性	YWG-CN	氰基	10	i	8% C
		μ-Bondapak CN	氰基	10	i	9%覆盖量
		Partisil ODS	氨基、氰基	10	i	氨基/氰基=2∶1,70%稳定
		Partisil ODS₂	醚基	5,10	i	用于有极性溶剂和力的样品分析
		Zorbax ODX	醚基	10	s	
	非极性	μ-Bondapak C₁₈	烷基	10	i	有(37～50)μm制备柱填料
		LiChrosorb RP-18	烷基	5,10	i	用于糖类和肽分析
		Supelcosil LC-18	烷基	10	i	9%覆盖量
		Nucleosil C₁₈	烷基	5,10	s	也可用于反相

续表

类 型		牌号名称	官能团	粒度/μm	形状①	简要说明
非极性键合固定相	长链	YWG-$C_{18}H_{37}$	C_{18}硅烷	10		有(30~50) μm制备柱填料
		YQG-C_{18}	C_{18}硅烷	5	s	一氯硅烷键合，15% C
		MicroPak-CH	C_{18}硅烷	10	i	聚合型，22% C
		Partisil ODS	C_{18}硅烷	5,10	i	5% C
		Partisil ODS2	C_{18}硅烷	5,10	i	16% C，单分子层，未封尾
		Zorbax ODS	C_{18}硅烷	6	s	15% C，微粒填料8 μm
		μ-Bondapak C_{18}	C_{18}硅烷	10	i	10% C
		LiChrosorb RP-18	C_{18}硅烷	5,10	i	22% C，部分聚合，pH=1~9
		Supelcosil LC-18	C_{18}硅烷	5	s	11% C，HMDS封尾
		Nucleosil C_{18}	C_{18}硅烷	5,10	s	15% C
	短链	LiChrosorb RP-8	C_8硅烷	5,10	s	9%~14% C pH=1~9
		Nucleosil C_8	C_8硅烷	5,10	s	10% C
		Zorbax C_8	C_8硅烷	6	s	15% C
		YWG-C_6H_5	苯基硅烷	10	i	7% C
		μ-Bondapak Phenyl	C_6硅烷	10	i	16% C
		LiChrosorb RP-2	二甲基硅烷	5,10	i	5% C
离子交换键合固定相	阳离子	YWG-SO_3H	磺酸基	10	i	
		Partisil 10 SCX	磺酸基	10	i	pH=1.5~7.5
		LiChrosorb KAT	磺酸基	5,10	i	孔径10 nm
		Zorbax SCX	磺酸基	7	s	pH=2~9
	阴离子	YWG-R_4NCl	季铵离子	10	i	
		LiChrosorb AN	季铵离子	5,10	i	孔径10 nm
		Nucleosil SB	季铵离子	5,10	s	pH=1~9
		Vydac 301 TP	季铵离子	10	s	pH=1~9

① s为球形，i为非球形。

极性键合相一般指键合有机分子中含有某种极性基团，和空白硅胶相比，这种极性键合相的表面上能量分布相对均匀，因而吸附活性也比一般的硅胶低，可以看成是一种改性的硅胶。常使用正相操作，即用比键合相本身极性小的流动相冲洗，最常用的固定相有氰基（—CN）、二醇基（DIOL）、氨基（—NH_2）等类型。

氰基键合相的分离选择性与硅胶相似，但因极性比硅胶弱，所以在相同流动相条件下的保留值较硅胶小，若要维持相似的保留值，可用极性更小的流动相冲洗。许多在硅胶上的分离可用氰基键合相完成，它的优点是在梯度冲洗或流动相组成改变时平衡快。由于键合过程中 Si—OH 基被—CN 基取代，因而固定相和溶质间的不可逆化学吸附或副反应减少。氰基键合相能与某些含有双键的化合物发生选择性相互作用，因而对双键异构体或含有不等量双键数的环状化合物有更好的分离能力。

二醇基键合相一般是缩甘油氧丙基硅烷键合相的水解产物[Si—$(CH_2)_3$—O—CH_2CHOH—CH_2OH]，对有机酸和某些齐聚物有希望获得好的分离，二醇基的另一个用途是可进行某些蛋白质的体积排斥色谱分离。和硅胶表面"硬"的硅醇基相比，蛋白质分子与填料表面相互作用时二醇基起到一种"软"接触的作用。蛋白质分子和键合相链中的两个非极性部分之间的相互作用对保留值的影响并不大，但应尽可能避免键合相上的残余羟基对蛋白质的吸附作用。

氨基键合相的性质与硅胶有较大的差异。Si—OH 基呈酸性，而—NH_2 呈碱性，所以当用于正相冲洗时表现有不同的选择性。—NH_2 基具有强的氢键结合能力，对某些多官

醇类化合物，如甾体、强心苷等，有较好的正相分离作用。在酸性介质中，这种键合相作为一种离子交换剂，可用于分离核苷酸。氨基可与糖类分子中的羟基发生选择性相互作用，因而当用乙腈-水做流动相时可以分离单糖、双糖和多糖，这已成为一种常规方法。此时尽管从流动相角度看为反相，但从机理上讲为正相色谱，因为流动相中水含量的增加使保留值减小。

当化学键合的有机硅烷分子中带上固定的离子交换基团时，称为离子交换键合相。与一般的离子交换树脂相同，带磺酸基、羧酸基者为阳离子交换剂；带季铵基（$-R_4N^+$）或氨基（$-NH_2$）者为阴离子交换剂。硅胶基质离子交换键合相具有刚性强、耐压及没有树脂那种固有的溶胀和收缩现象等优点，因而可在同一根柱上按照分析对象的具体要求在较宽的范围内改变流动相的离子强度、pH 值以及有机调节剂的种类和含量，不会对柱性能产生较大影响。再者，硅胶基质粒度细，均匀性好，表面传质过程快，因而柱效比离子交换树脂柱高。此外离子交换键合相柱通常在室温下操作即可获得良好的分离，比树脂柱简单。

树脂型填料是作为离子交换色谱用固定相的传统填料，大多数都为苯乙烯-二乙烯苯共聚物基体。近期的研究工作主要集中在减小粒度和设计特定的孔结构方面。与键合相比较，树脂型离子交换剂有使用 pH 范围广（pH＝1～14）的特点，（化学键合相一般 pH 为 2～7.5）。离子交换树脂受污染后，一般可以直接从柱内退出，经洗涤、再生后重新装柱，这也是优于键合相的特点之一。

反相高效液相色谱中使用的固定相，大多是各种烃基硅烷的化学键合硅胶。烷基链长可以是 C_2、C_4、C_6、C_8、C_{10}、C_{16} 和 C_{22} 等，最常用的是 C_{18} 又称 ODS，即十八烷基硅烷键合硅胶。键合烷基的链长对键合相的样品负荷量、溶质的容量因子及其选择性有不同的影响，当烷基键合相表面浓度（$\mu mol \cdot m^{-2}$）相同时，随着烷基链长增加，碳含量成比例增加，溶质的保留值增加。

短链烷基（C_2、C_4）硅烷，由于分子尺寸较小，与硅胶表面键合时可以有比长链烷基更高的覆盖度和较少的残余羟基，适合于极性样品或做离子抑制的样品的分析。长链烷基键合相有较高的碳含量和较好的疏水性，对各种类型的样品分子有较强的适应能力，从非极性的芳烃到氨基酸、肽、儿茶酚胺和许多药物的分析皆可适用。苯基键合相和短链烷基键合相性质类似。新发展的多环芳烃键合相与长链烷基相性质接近，较适合于芳香族化合物的分离。为适应蛋白质、酶等生物大分子分离的需要，一些键合有短链烷基（C_1、C_4）的大孔硅胶[（20～40）nm]键合相和非极性较弱更好的含氟硅烷键合相也已发展起来。新型键合固定相的迅速发展为分析工作者对具体样品选用合适的固定相带来诸多便利。

三、离子交换固定相

这里的离子交换固定相即指一般的离子交换剂，不包括键合离子交换固定相。

离子交换剂的种类很多，大部分为有机物，如各种类型的树脂，也可以是无机物，如矿物质等，它们既可以是人工合成的，也可以是天然的，例如各种改性的纤维素、葡萄糖、琼脂糖的衍生物等。通常用聚苯乙烯和二乙烯基苯进行交联共聚生成不溶性的聚合物基质，再对芳环进行磺化生成强酸性阳离子交换剂；或对芳环进行季铵盐化，生成带有烷基胺官能团的强碱性阴离子交换剂。

离子交换剂上的活性离子交换基团决定着其性质和功能，表 2-11 列出了一些主要的有机离子交换剂的类型和性质。

表2-11 常见有机离子交换剂的类型和性质

种类	缩写	官能团	基质材料	类型
阳离子交换剂	S	$—SO_3^-$	树脂	强酸性
	SM	$—CH_2SO_3^-$	树脂	强酸性
	SE	$—C_2H_4SO_3^-$	纤维素、葡聚糖	强酸性
	SP	$—C_3H_6SO_3^-$	葡聚糖	强酸性
	P	$—PO_3^-$	纤维素、树脂	中强酸性
	C	$—COO^-$	碳水化合物，树脂	弱酸性
	CM	$—CH_2COO^-$	纤维素、葡聚糖、树脂	弱酸性
阴离子交换剂	TAM	$—CH_2N^+(CH_3)_3$	树脂	强碱性
	HEDAM	$—CH_2N^+(CH_3)_2C_2H_4OH$	树脂	强碱性
	TEAE	$—C_2H_4N^+(C_2H_5)_3$	纤维素	强碱性
	QAE	$—C_2H_4N^+(C_2H_5)_2CH_2CH(OH)CH_3$	葡聚糖	强碱性
	GE	$—C_2H_4NHC=N^+H_2(NH_2)$	纤维素	中强碱性
	MP	$—C_6H_4N^+CH_3$	树脂	强碱性
	DEAE	$—C_2H_4N^+H(C_2H_5)_2$	纤维素、葡聚糖	中强碱性
	ECTEOLA	不确定性的混合物	纤维素	中等/弱碱性
	AE	$—C_2H_4N^+H_3$	纤维素	弱碱性
	PEI	$—(C_2H_4N^+H_2)_nC_2H_4N^+H_3$	纤维素	弱碱性
	AAM	N^+HR_2	树脂	弱碱性
	PAB	$—CH_2C_6H_4N^+H_3$	纤维素	弱碱性

除阳离子、阴离子交换剂外还有两性离子交换剂，在其基质中既含有阳离子交换基团，又含有阴离子交换基团。这类离子交换剂在与电解质接触中可形成内盐，通过用水洗的办法很容易使它们获得再生。偶极子型离子交换剂是一种特殊类型的两性离子交换剂，通过氨基酸键合到葡聚糖或琼脂糖上制得，其在水溶液中可形成偶极子，这种离子交换剂非常适合于能与偶极子发生相互作用的生物大分子的分离。

尽管离子交换剂的种类很多，然而到目前为止用得最多的仍然是以聚苯乙烯和二乙烯苯为基质的带各类官能团的离子交换剂。但其作为柱填充物有较大的溶胀性，不耐高压，表面和内部的微孔结构会影响溶质的传质速率。以硅胶为基质的各种键合型离子交换剂的应用越来越广泛，最常见的键合型离子交换剂通过在薄壳型或全多孔球型微粒硅胶表面键合上各种离子交换基团制得。这种离子交换剂具有较好的化学稳定性和热稳定性，并能承受较高的压力，分离效能较高。

四、凝胶固定相

凝胶是凝胶色谱产生分离作用的基础，选择和搭配具有不同孔径及色谱性能良好的凝胶是完成凝胶色谱分离的重要步骤。

根据材料的不同，凝胶可分成有机和无机凝胶两大类。不同凝胶在装柱方法、使用性能上各有差异。对有机凝胶，要求湿法装柱，柱效较高，由于热稳定性、机械强度低、化学惰性差及易老化等缺陷，对使用条件要求较苛刻。常用有机凝胶有交联聚苯乙烯、交联聚乙酸乙烯酯、交联葡聚糖等种类，交联聚苯乙烯的孔径分布比较宽，因此分离样品的分子量范围比较大，柱效较高，可用一般的非极性有机溶剂作流动相。

无机凝胶柱效相对低一些，但性能稳定，对使用条件要求不苛刻，易于掌握。无机凝胶有多孔硅胶和多孔玻璃，多孔硅胶是一种被广泛采用的无机凝胶，其特点是化学惰性、热稳定性及机械强度好，因此使用寿命长。此外，无机凝胶对液流阻力小，柱压低也有利于仪器

的正常运转和延长其使用寿命。硅胶的最大特点是解决吸附问题，一般需要作表面处理。

可根据不同凝胶的色谱指标，即渗透极限和分离范围选择分析样品所需的硅胶种类，渗透极限是凝胶可以用来分离溶质的分子量最大极限，分子量超过该极限的分子在凝胶颗粒间隙流出，没有分离效果，渗透极限与孔大小有关，孔径大，渗透极限也大。分离范围一般是指分子量-洗脱体积曲线的线性部分。表2-12给出了国产NDG—L系列凝胶色谱填料的一些基础数据，文献［12］中也有对其他品牌凝胶色谱填料的讨论。

表2-12 NDG-L系列凝胶色谱填料的基础数据[12]

硅 胶	渗透极限(聚苯乙烯分子量)	分离范围	硅 胶	渗透极限(聚苯乙烯分子量)	分离范围
NDG—1L	4×10^3	$500\sim2\times10^3$	NDG—4L	1×10^5	$6\times10^4\sim1\times10^5$
NDG—2L	1×10^4	$1\times10^3\sim1\times10^4$	NDG—5L	3×10^5	$1\times10^5\sim3\times10^5$
NDG—3L	2.5×10^4	$1\times10^4\sim1\times10^5$	NDG—6L	5×10^5	$3\times10^5\sim5\times10^5$

可采用将不同规格的凝胶柱串联起来搭配的方法，使分子量-洗脱体积曲线的线性范围与待测样品的分子量范围相当。实际使用时，根据样品的不同可以决定采用哪几种硅胶，用几根柱子进行匹配，以得到好的分离效果。

参 考 文 献

1 王俊德，商振华，郁蕴璐．高效液相色谱法．北京：中国石化出版社，1992：93，155
2 Snyder L R，Kirkland J J，Glajch J L．Practical HPLC Method Development．Second Edition．New York：John Wiley & Sons，Inc．1997：78，275
3 Saunders D L．Anal Chem，1974，46：470
4 Meyer V R，Palamareva M D．J Chromatogr，1993，641：391
5 Schoenmakers P J，Billiet H A H，de Galan L．J Chromatogr，1981，218：259
6 Schoenmakers P J，Billiet H A H，de Galan L．J Chromatogr，1979，185：179
7 Schoenmakers P J，Billiet H A H，de Galan L．J Chromatogr，1981，205：13
8 Bleeman D P，Billiet H A H，De Galan L．J Chromatogr，1989，463：1
9 Bartha A，Vigh G，Varga-Puchony Z．J Chromatogr，1990，499：423
10 Bartha A，Vigh G，Billiet H A H，et al．J Chromatogr A，1994，660：17
11 卢佩章，张玉奎，卢佩章．高效液相色谱法．北京：科学出版社，1996：126
12 张新申．高效液相色谱分析．北京：学术书刊出版社，1988：144

第三章 液相色谱柱

色谱柱是HPLC分离过程中的中心。拥有一支稳定、高效的色谱柱对建立抗干扰强、重现性好的分析分离方法是必不可少的。不同供应商的商品柱，甚至来源相同的色谱柱之间也会差异很大，以至于严重影响分离结果。不同的色谱柱在相同的操作条件下，塔板数、谱峰的对称性、保留值、峰间距以及使用寿命方面会有不同。本章中，我们将提供一些关于色谱柱载体、固定相及柱填料的信息，并讨论色谱柱应用中的问题，以及适宜的解决方案。

第一节 常用液相色谱柱

高效液相色谱柱通常用能耐 80 MPa（816 atm），内径均匀的优质不锈钢管制成，其内壁经过抛光，无轴向沟槽，光洁度在∇_8以上。采用这种清洁的不锈钢管填装固定相，可以得到较好的重复性和较高的柱效。在样品可能与不锈钢发生有害反应的特殊情况下也有用玻璃或玻璃衬里不锈钢柱的。在压力要求不太高时也可以采用塑料柱，这种柱适合在较宽的pH值范围内使用。

对于生物样品，采用玻璃柱相对有利，但由于压力的限制对其应用范围，玻璃衬里的不锈钢柱可在常规压力下应用，避免了这类问题。一般不锈钢柱可以满足大多数的分离要求。在用其他材料不合适时，可用能承受较高操作压力的刚性聚合物（PEEK）柱。

常用的分析型液相色谱柱内径为 4.6 mm，长度为（20～25）cm，填料粒度通常为（3～10）μm，表 3-1 总结了一般的商品化不锈钢色谱柱的特征。

表 3-1 色谱柱构型（不锈钢）

类 型	内径/cm	长度/cm	粒度/μm
分析型			
加压接头	0.3～0.46	3～25	3～10
卡套	0.3～0.46	5～30	3～10
半制备型	0.8～1.0	10～25	5～20
制备型	2.0～5.0	10～25	5～20

柱填料为 5μm 的色谱柱通常兼顾柱效、重现性与可靠性最好。粒度为 3 μm 的色谱柱能快速分离或柱效较高，但 3 μm 柱更易发生堵塞，使柱寿命大大降低。3.5 μm 微粒填充的色谱柱似乎能很好地兼顾高效与柱寿命[1]。

可以采用多孔烧结滤片封闭色谱柱的两头，固定住填料微粒。5 μm 与 3 μm 粒度固定相用 2 μm 与 0.5 μm 孔径的不锈钢滤片封闭，但这种滤片有活性，且容易阻塞。采用加压接头可以避免这类问题，这类色谱柱能提供较高的柱效与重现性。

0.3 cm 内径的色谱柱的溶剂消耗只是广泛使用的 0.46 cm 柱的一半。当用 0.21 cm 细径柱时，溶剂消耗为 0.46 cm 内径柱的 1/4。而 0.1 cm 内径的细径柱可用的分析溶剂更少，细径柱的主要优点是样品的单位质量的检测灵敏度较高。当 HPLC 仪器与质谱仪等检测器联用时，往往必须采用细内径色谱柱。细径柱不易填充均匀，塔板数常低于同类的 0.46 cm 内径

柱，对于一般分析型色谱柱，流动相流速约为 1 ml・min⁻¹，色谱柱效在 7 000～10 000 之间。

第二节　膜色谱柱

一、概　　述

在科研生产过程中，对蛋白质、多肽和核酸等生物大分子的分析分离和纯化工作需要高效、快速的方法，特别是用于临床的生化药品分析和制备，不仅要求达到很高的纯度，而且还要在分离过程中最大限度地保持样品的生物活性。

传统的管式结构柱色谱，流体在色谱柱内沿轴向从一端流向另一端，色谱固定相为多孔颗粒填料，虽然具有分离效率高，柱容量大的特点，但对于生化分离分析而言，存在以下缺点：① 流速慢、生产效率低、蛋白质在长时间分离过程易变性失活；② 压降大，对分离系统要求高；③ 不易放大。

膜分离过程具有处理量大，效率高等优点，选用具有高选择性和分辨能力的色谱填料，如离子交换或亲和色谱填料制成膜的形式，结合径向流动的原理，可做成处理量大、速度快、选择性好、分辨度高的分离组件，这就是径向膜色谱技术。这项技术在 80 年代中后期出现，国内自 1986 年开始研制，目前已开发出以纤维素为基质的离子交换、亲和、疏水等多种类型的复合膜介质，各种规格的径向、轴向膜色谱柱已商品化。

二、径向膜色谱技术的原理及特点

径向膜色谱柱的结构原理如图 3-1 所示，径向膜色谱柱采用螺旋卷式膜组件结构、径向流动原理，样品和流动相从色谱柱的圆周流向柱的圆心。径向色谱柱与传统的轴向柱相比，在其流向的截面积较大、流速大时，压力降仍很低；保持柱径不变只增加柱长，可以线性增加样品的处理量，分离条件与时间不会产生明显变化。通过理论研究和实验证明，径向膜色谱柱具有以下特点[2,3]：

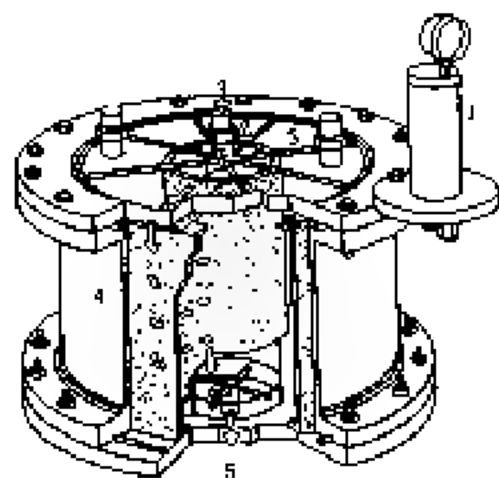


图 3-1　径向流动色谱柱

1—压力装置；2—进样口；3—进样管；4—多孔固定相；5—洗脱组分出口

（1）速度快、处理量大、压降小　膜介质与流动相接触面积大，而流动相流程短，比同体积的凝胶轴向柱快 4～7 倍。

（2）易放大生产　可以在基本不影响分离性能的条件下按实际生产需要进行线性放大，而且可以通过进行多柱串联或并联来提高分离性能和处理量。径向膜色谱柱非常适合大体积原料，如基因工程、发酵工程产生的大体积低浓度蛋白质、核酸等生物大分子的柱上富集纯化。

（3）成本低、使用寿命长、易于再生　纤维素价廉，来源充足，经化学改性后，在可供偶联配基的活性基团大大增多的同时，也改善了纤维素的物理化学性能，增强了纤维素膜的强度，使其使用寿命延长。较高的分离速度可大大缩短分离时间，避免或减少不稳定蛋白质在分离过程中的降解或失活，提高了回收率。膜色谱柱可原位再生，毋需重新装柱，既省时省力，又可避免重新装柱造成的

介质流失等损失。

三、膜色谱柱的应用

美国CUNO公司已将膜色谱柱商品化，其产品从最小的实验室规模(如Zeta Prep-15，处理量150 mL·h^{-1})和中试规模(如Zeta Prep-800，处理量10 L·h^{-1})，到生产规模(如Zeta Prep90sp，处理量10 000 L·d^{-1})，已形成系列化。膜的类型主要是离子交换型。另外，美国Millipore公司和Nygene公司还相继推出了以蛋白A为亲和配基的商业化膜色谱组件。中国科学院大连化学物理研究所国家色谱研究分析中心研制和生产的径向膜色谱柱的种类、性能及应用情况在表3-2中列出。产品型号和规格列入表3-3。

表3-2 膜色谱柱产品性能及应用

类型	名称	官能团	配基数量/克干介质	载量/克介质	pH稳定性	应用实例
离子型	CM 弱阳离子型	COO^-		50 mg BSA (pH 4.5)	2~14	尿激酶原、乙型肝炎核心抗原单抗、重组葡激酶单抗、IgG、血清白蛋白
	DEAE 弱阴离子型	$N(C_2H_5)_2$		50 mg BSA (pH 8.5)	2~14	干扰素α2a、EPO、rIL-2、BSA、IgG、Kunitz、热原、protein A
	QAE 强阴离子型	$N(CH_3)_3$		70 mg BSA (pH 8.5)	2~14	人尿激肽释放酶、rIL-1
	SP 强阳离子型	SO_3^-		26 mg BSA (pH 4.5)	2~14	IL-2、rIL-1、溶菌酶、小鼠单抗
亲和型	QHA	Protein A	(4~6) mg	(15~25) mg IgG	3~10	人IgG
	QHH	肝素	8		5~10	Taq酶、凝血酶
	IDA 亚胺二乙酸	$N(COOH)_2$	(10~110) μmol 可调	(10~140) μmol Cu^{2+}	3~14	牛和人血清白蛋白、IgG
	QHM 苯肼	$C_6H_4(NH_2)-NH$	(5~20) μmol	(10~20) mg 胰蛋白酶	2~14	胰蛋白酶、尿激酶
疏水型	SSD 己二胺	$NH(CH_2)_6NH_2$	(30~40) μmol	(10~20) mg BSA	2~14	EPO、热原
	SSM 甲基	CH_3	40 μmol	20 mg BSA	2~14	牛和人血清白蛋白
	SSA 戊烷	$NH(CH_2)_4CH_3$	25 μmol	40 mg BSA	2~14	血清白蛋白、热原
	SSB 苯基	C_6H_5	40 μmol	50 mg BSA	2~14	牛血清白蛋白

表3-3 不同柱型号的规格

型号	100A	250型	600型
柱规格/(mm×mm)	ϕ57×30	ϕ57×120	ϕ7×400
干填料量/g	10	20	120
体积/mL	85	190	1 000

四、高效分析膜色谱柱

高效分析膜色谱是对活性生物大分子进行快速分析和定量的一种可行方法。采用不同配基，可在不同条件下对各种生物活性大分子进行定量分析及小量样品的制备，具有速度快、易

于定量、非特异性吸附低、柱压低、成本低及柱体积小等优点[4]。美国 Millipore 公司 90 年代初期推出了可与高效液相色谱配套使用的分析型离子交换膜色谱柱，如 Mem Sep TM 1000，可用于生物大分子的快速分离分析。中国科学院大连化学物理研究所采用自制的复合纤维素膜为原料，也成功研制出了高效快速膜色谱分析柱[4]。

高效分析膜色谱具有如下优点：

① 分析速度快(色谱过程只需(1～7) min)，使在线分析成为可能；

② 柱压低(柱压一般在 7000 Pa 以下)；

③ 成本低；

④ 柱体积小(柱内体积只有 0.5 ml)；

⑤ 非特异性吸附小(高效亲和膜色谱柱的非特异性吸附量在高效液相色谱仪检测限以下)。

五、膜的污染及其处理方法

无论是以微孔膜还是表面带有功能基团的色谱分离用膜，经过一段时间的使用，都会由于溶质在膜表面产生沉淀或结晶，形成所谓"凝胶层"而造成膜的分离性能下降，这种现象称为膜污染。膜的污染受多种因素的影响，如膜的亲、疏水性，荷电性，蛋白质种类，分离缓冲液 pH 值、无机盐浓度、料液浓度、流速压力等等。一般而言，强亲水性膜和强疏水性膜与蛋白质的相互作用较弱，较耐污染。调节 pH 值远离蛋白质等电点时，污染程度较小。随着温度的升高，膜表面对蛋白质的吸附增强，污染程度增加。为保持膜的分离性能，延长使用寿命，必须采取一定的清洗方法，除去膜表面或膜孔内的污染物，使膜的分离纯化性能得到恢复。对金属螯合复合纤维素膜的使用寿命进行考察表明：膜色谱柱经反复多次使用后仍保持较好的吸附容量及纯化效果，当吸附容量降至 80%以下时，经 0.5 mol・L⁻¹的 NaOH 和 HCl 处理后，吸附容量及纯化效果可基本得到恢复，压降和流量无明显下降。在防腐剂 0.02%的 $NaNO_3$ 存在下，金属螯合膜色谱柱放置 1 年后再使用，也未发现柱效明显降低[5]。

第三节　制备色谱柱

制备色谱是指以分离获取较大量的单组分样品为目的的一种分离技术，与一般以分析各组分取得定性定量结果为目的的色谱技术有所不同。随着近代化学制药工业和生物技术的发展，高效液相色谱作为制备手段的意义越来越大[7]，从直径约 10 mm 的实验室半制备柱到直径为 500 mm 的工业制备柱及相应设备，都相继商品化，许多实际的分离纯化问题得到解决。

一、制备规模

液相色谱制备纯物质一般有三个目的，即结构鉴定、生物与毒理试验，以及某些珍贵和难分离单组分物质的生产。表 3-4 中列出了一些仪器分析方法进行结构测定时所需的样品量。

目的不同，制备色谱的操作也不同：

(1) 半制备色谱　柱内径在 (5～20) mm，长度为 (15～50) cm 范围，一般使用 10 μm 或 (20～30) μm 粒度的填料，用一台普通分析型高效液相色谱仪，便可获得毫克量

表 3-4 一些仪器分析方法所需的样品量

方法	样品量/mg
核磁共振(氢谱)	1~10
核磁共振(傅里叶变换)	0.1~1
红外光谱	0.01~0.1
质谱	0.001
元素分析	0.1~1

级的单组分，流量小时，可另配一台流量稍加扩大的高压输液泵。

（2）克级制备色谱　使用 50 mm 左右内径，（20~70）cm长的色谱柱，填料粒度（10~60）μm。这种柱子可装填（200~500）g 固定相，在超负荷运行下，可获得克级以下的纯化合物组分。

（3）工业制备色谱　色谱柱内径尺寸大约在（10~50）cm（或更粗），（50~100）cm 长。此时一般都采用闭路循环和溶剂再生系统。此外，也有环形液相制备色谱等特殊类型。

二、制备色谱柱的设计

制备色谱柱因柱直径加大，进样量增加，因而在柱头结构上与分析柱完全不同。分析柱都设计成柱头中心进样的结构（见第五章），但在制备柱情况下，希望样品能在柱头截面上均匀地渗入填充床。这样一方面保证了大量样品能在尽可能短的时间内很快地进入柱床，另一方面也克服了柱中心样品局部过浓的现象，有利于提高柱效。图 3-2（a）是典型制备柱的柱头结构，柱头上方是一个锥形的液流分配器，有时还加入一些玻璃球，使样品分散渗入柱床。例如 Amicon 公司的制备柱头同时具有液流导向槽和反喷结构，保证了样品均匀地从全截面进入色谱柱。同样在柱末端，从大截面的柱床到小截面的连接管，也是渐变的锥形结构［图 3-2（b）］，从而克服了因柱面积突然变化造成的流路死角［图 3-2（c）］。样品引入色谱柱可以有三种方式，即配有量管的进样阀、进料泵和注射器。

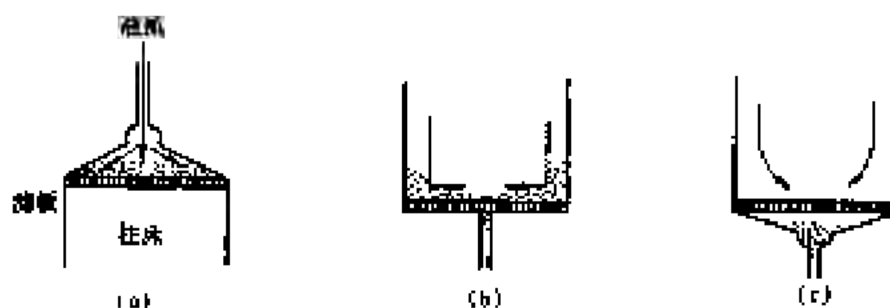


图 3-2　制备柱柱头示意图

操作压力在 2 MPa 以下的中压液相色谱（MP-HPLC）广泛使用不同规格的玻璃柱，这种柱的两端也均呈锥形收缩结构，与细的输液管连接。

三、柱填充方法

1．干装

原则上大于 20 μm 的填料可以用这个方法。

将填料通过漏斗加入到垂直放置的柱管中，同时进行敲打或振动柱管，以得到填充紧密而均匀的填充床。

2．匀浆填充法

无论大粒径还是小粒径固定相均可采用。

以一种或数种溶剂配制成密度与固定相相近的溶液，经超声处理使填料颗粒在此溶液中高度分散，呈现乳浊液状态，即制成匀浆，用加压介质（己烷或甲醇等）在高压下将匀浆压入柱管中，制成具有均匀、紧密填充床的高效色谱柱。

匀浆填充法的关键是匀浆的制备，并需要有一台性能优良的大流量泵。

以上两种方法与分析柱装填的差别不大。

3. 轴向压缩法

这是一个填充大直径柱较简便的方法。如图3-3所示，柱管的底部是一个带筛板的活塞(2)，开始时一定量填料的匀浆混合物从柱管上端倒入，加上接头(3)。由(10)处充入1 MPa的压缩气体，推动活塞上移，于是倒入的填料层被压缩，溶剂从上接头内的筛板滤过，从(8)排出。正常分离制备时，溶剂或样品经三通阀(5)导入柱内，流出液由(9)排出，进入检测器和收集器。更换柱填料时也很简单，只需打开上接头，用压缩空气推动活塞上移，固定相就可以被推出柱外。

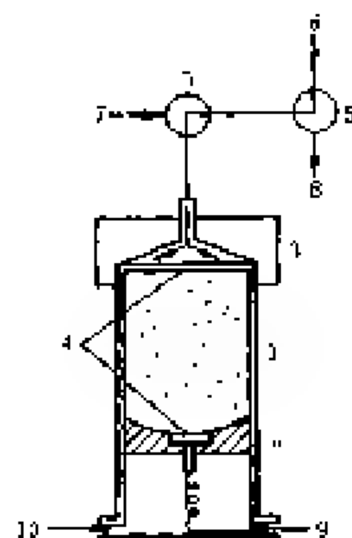


图3-3 轴向压缩法装柱
1—柱管；2—活塞；3—柱上接头；4—过滤板；5—三通阀；6—溶剂；7—样品；8—废液；9—柱流出液；10—压缩空气

4. 径向压缩法

这是Waters公司提出的一个专利项目，色谱柱管为一塑料筒，填料先以干装法填满柱筒，然后放入一个精制的不锈钢加压设备中，压缩空气被引入加压容器和筒壁之间，产生对筒壁以及对填充层的径向压力，因塑料的筒壁变形而减小或消除了填充床筒壁处的自由空隙，使填充床均匀，有利于提高柱效。

参 考 文 献

1 Kirkland J J. J Chromatogr Sci, 1995, 33: 493
2 Jungbauer A, Unterluggauer F, Uhl K, et al. Biotechnol Bioeng, 1988, 32: 326~333
3 Wang H, Lu T, Zou H, et al. Biomed Chromatogr, 1996, 10: 139~143
4 Josic D, et al. J Chromatogr, 1992, 590: 59
5 杨利，贾建云，郑权兹等. 色谱, 1997, 15(2): 125~134
6 杨利，贾建云，郑权兹等. 中国科学B辑, 1998, 28(4): 354~360
7 耿信笃. 高效液相色谱法纯化蛋白质理论与技术. 西安：陕西科学技术出版社，1993

第四章　柱液相色谱分离方法

第一节　正相色谱法

一、概　　述

正相色谱是指采用极性固定相（如硅胶、三氧化二铝、及带有二醇基、氨基和氰基的固定相）、非极性流动相的一种操作模式，这是一种根据分子的极性大小将其分离开来的液相色谱技术。因其以吸附效应作为分离的基础，所以也称为吸附色谱。最常用的填料是极性较强的硅胶，三氧化二铝等也常被使用，流动相一般为正己烷等非极性溶剂。在正相色谱中，样品分子与载体基质的硅醇基团产生特异的极性相互作用，与固定相发生强极性相互作用的极性样品分子将较难被洗脱，在柱内停留较长的时间，反之，极性较弱或非极性分子与硅胶之间的相互作用相对较弱，因而在柱内停留的时间较短。因此，正相色谱是根据溶剂极性差别达到分离目的的。

正相色谱通常用来分离中性和离子（或可电离的）化合物，并以中性样品为主，采用正相分离离子样品时可以在流动相中使用水[1~5]，但这样将使保留过程复杂化；分离碱性化合物时应在流动相中加入三乙胺，分离酸性化合物时加入乙酸或甲酸。中性样品采用反相和正相分离的效果相当，其主要差异在于两种方法的洗脱顺序相反，在正相中弱极性（疏水的）化合物先洗脱，强极性（亲水的）化合物后洗脱；而在反相中恰恰相反。根据正相色谱的上述特点，在实际工作中，正相色谱适用于以下几类样品的分离分析[6]：① 反相色谱法很难分离的异构体可以采用以硅胶为固定相的正相色谱分离分析；② 根据被分离样品的极性差别进行族类分离；③ 易于水解样品的分离分析；④ 在极性有机溶液中溶解度很小的脂溶性样品的分离分析。表 4-1 中总结了正相色谱的主要特征。

表 4-1　正相色谱的主要特征

优　　点	缺　　点
1 通过改变流动相或柱填料，可使分离选择性有很大改善（尤其对无机填料，如硅胶）	1 离子型样品更适于在反相中分离
2. 使用非水流动相时，色谱柱非常稳定	2. 溶剂强度的控制比反相色谱更困难
3 许多有机化合物在正相溶剂中更易溶解（在制备 HPLC 中该优点尤其突出）	3 正相色谱柱的重现性有时低于反相柱
4 使用低黏度溶剂，有较低的压降	4. 低沸点溶剂更易发生成泡（尤其在柱温较高时）
5. 适用于在水溶液中易分解的样品	5 对于无修饰的硅胶： ① 由于柱填料对水的保留，会导致保留值发生变化； ② 由于溶剂分配和硅胶柱对水的保留，使梯度洗脱无法进行
	6. 有机溶剂的成本和处理费用更高

二、流动相的选择

正相色谱的保留机理类似吸收过程，极性样品分子和溶剂分子竞争吸附在柱填料表面的

极性基团（吸附剂）上。在使用硅胶时，吸附位点为硅烷醇（－SiOH）；对于正相中经常选用的氨基、氰基或二醇基固定相柱，吸附位点通常为键合相配体或硅烷醇。极性样品分子包括连接在烃基（如己基或苯基）上的一种或多种极性官能团，而非极性样品在吸附位点上的吸附非常弱。对于强极性化合物，由于其与固定相的强烈相互作用导致分离效率较差，峰形严重拖尾。

正相流动相的配制，一般选择一种较弱（非极性）的溶剂 A 和一种较强（极性）的溶剂 B，然后按某种比例混合获得。当选好强溶剂和弱溶剂之后，可以通过混合使样品组分达到合适的保留值。一般地，在特定的色谱操作条件下，溶质的保留值与强溶剂浓度的关系可以表示为[7]

$$\ln k' = a + bC_B + c\ln C_B \tag{4-1}$$

式中，a、b、c 为与溶质及固定相、流动相性质有关的常数，与流动相组成无关；C_B 为强溶剂浓度。

在以硅胶作为吸附剂时，很多实验表明保留值符合 Soczewinski 方程[8]

$$\ln k' = c_1 - n\ln C_B \tag{4-2}$$

式中，c_1 和 n 对于确定的溶质、溶剂和色谱柱系统为常数；n 值近似表示溶质分子中极性定位基团的数目。显然式(4-2)可认为是式(4-1)的简化形式。

对于正相色谱中溶质保留值的估算，可以采用"三倍规则"，即：2 倍 C_B 的增加导致大约 3 倍 k' 值的减小。这一经验规则对于实际分析过程中流动相配比的选择、调节非常方便。

三、柱型的选择

正相色谱中经常采用的色谱柱有氰基柱、硅胶柱、二醇基柱和氨基柱（大致按分析中常用的顺序排列），柱强度为[9]

硅胶(强)柱≈Al_2O_3柱≫氨基柱>二醇基柱>氰基柱

采用无修饰硅胶（与极性键合相比）柱正相具有如表 4-2 的优缺点。对于一般分离，采用硅胶柱不太方便，但是对于异构体分离以及制备分离则宜采用无修饰硅胶柱。

表 4-2 正相色谱中硅胶柱与极性键合相柱的分离效果对比

特　点	说　明
方便性与重现性	PBP（氰基、二醇基、氨基）柱操作简便，重现性好。而采用硅胶柱则需要控制流动相中水的含量
改变流动相后的柱平衡	硅胶柱需要的平衡时间较长
柱稳定性	硅胶柱与 PBP 柱都很稳定，但硅胶柱的寿命更长一些
异构体的选择性	硅胶柱适合分离异构体
梯度洗脱	硅胶柱不适合采用梯度洗脱
制备分离	由于成本低、稳定性好、柱容量高，且不易污染，通常采用硅胶柱

柱型的改变可能对正相选择性造成很大影响。碱性化合物（氨、醇、酯、酮等）与氰基柱相比易于在氨基和二醇基柱上保留，而偶极化合物（氯代、硝基、氰基取代物）在氰基柱上具有更强保留，这些色谱柱的选择性具有很大差异[10]。

在正相分离中，通常氰基柱是首选，硅胶柱适合于异构体的分离或有机可溶性化合物的制备回收，二醇柱和氨基柱稳定性较差，通常在样品于氰基柱上无法分离时才采用。至于色谱柱的尺寸，以 25 cm×0.46 cm 柱为首选。表 4-3 给出了几种正相色谱柱在分离过程中的特征。

表 4-3 几种常用正相色谱柱在分离过程中的特征

柱 型	说 明
氰基柱	分析分离首选，稳定性好，操作方便
硅胶柱	制备分离首选，尤其对有机可溶性样品。可获得最大选择性，但需控制流动相中水含量（不方便）
二醇柱	可替代氰基柱用来调整选择性，但不够稳定
氨基柱	可替代氰基柱用来调整选择性，但更不稳定
Al_2O_3柱	目前在HPLC中很少用，具有独特的选择性，但存在更多问题（峰拖尾、保留值不稳定，样品回收率低）

第二节 反相色谱法

一、概 述

反相色谱与正相色谱相反，是以非极性表面的载体为固定相，以比固定相极性强的溶剂系统为流动相的一种液相色谱分离模式。反相色谱固定相也多以硅胶为基质，但通常在其表面键合上疏水基团，样品中的不同组分和这类疏水基团之间有不同的疏水作用。极性较强或亲水的样品分子和反相柱中的载体间的相互作用较弱，因此较快流出；反之，疏水性相对较强的分子和基质间存在较强的相互作用，在柱内保留的时间相对较长。

反相液相色谱是目前液相色谱分离模式中使用最为广泛的一种分离分析模式。这是因为在流动相组成改变的情况下，有机改性剂能够迅速在固定相表面达到平衡，因此特别适合于梯度冲洗。另外，在反相液相色谱中，溶质在固定相上的保留是基于分子间的非特异性疏水相互作用，由于所有的有机化合物分子都存在疏水基团（能够与固定相产生相互作用），因此反相液相色谱成为理想的、普遍适用的分析方法，反相色谱适于分离分析同族化合物，带有支链的化合物比其直链同族化合物更不易保留。在反相液相色谱中，流动相常常含有水，因此与正相液相色谱相比，也更适于分离分析那些既不溶于有机溶剂又会与极性固定相产生强烈吸附作用的极性化合物。在对于生物大分子、蛋白质及酶的分离分析方面，反相液相色谱正受到越来越多的关注[2]，表 4-4 给出反相液相色谱的优缺点，表 4-5 给出了反相色谱与正相色谱的选择性对比。

表 4-4 反相液相色谱的特点

优 点	缺 点
1 适用于分离分析各种类型化合物，从离子型到非离子型	1 对硅胶载键合固定相，适宜的pH值限于2~7.5
2 分离系统易于操作	2 若硅胶表面残留有未反应掉的硅羟基，会导致溶质分子在固定相表面的特异性吸附，从而使峰形变差
3 因固定相是化学键合型，因此化学性质稳定，分离的重现性较好	3 保留机理尚待进一步研究
4 由于表面能很小，因此分析迅速，且平衡时间短	
5 流动相强度大于配制样品溶液的溶剂，可在色谱柱头浓缩	
6 反相液相色谱可用于测定各种物理化学性质参数，如疏水性、解离常数、配合常数等	

表 4-5 正相色谱和反相色谱的选择性对比

具有不同官能团的化合物，硅胶柱比C_{18}柱具有更大选择性；正相中的极性键合相柱比反相中的C_{18}具有更相近的选择性
同系物或含碳数不同的化合物，反相比正相具有更大选择性
异构体 硅胶柱比C_{18}柱具有更大选择性；极性键合相比C_{18}柱具有更大选择性

二、流动相的选择

样品的保留值可以通过改变流动相组成或溶剂强度来调整，在反相色谱中，采用高溶剂强度、低极性的流动相时可获得较低保留值。溶剂强度取决于有机溶剂的性质和其在流动相中的浓度。

关于溶质在反相色谱中的保留值与强溶剂浓度的关系已有大量的研究[9]，Snyder 近似认为 lgk 与%B 之间呈线性关系

$$\lg k' = \lg k_w - S\varphi \tag{1-3}$$

式中，k_w 为以水为流动相时的理论 k' 值，对于已知样品 S 为常数，φ 是有机调节剂在流动相中体积分数 [φ]，对大多数低分子量（<500）的化合物 $S \approx 4$，因此如果流动相浓度降低 10%，保留值将增大 2～3 倍，即与正相色谱相同，近似满足 3 倍规则。

有机溶剂类型的改变通常用来改善峰间距以及分离度[2,10]。对反相色谱溶剂类型的选择，取决于溶质的特征。溶剂性质(包括酸性、碱性、偶极性等）对选择性的影响可近似地采用溶剂选择性三角形（如图 4-1）来描述。

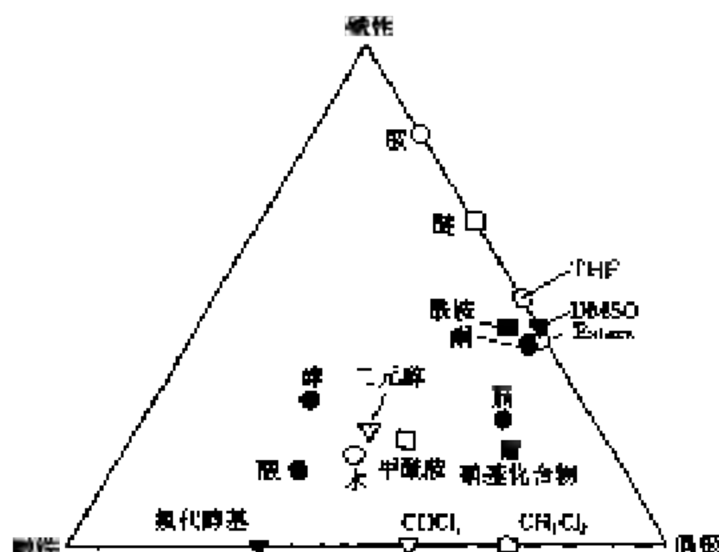


图 4-1　溶剂选择性三角形[11]

改变有机溶剂类型对反相与正相色谱来说，均是改变峰间距的有效手段，溶剂经偶极与氢键作用，在溶质分子表面附近形成溶剂化层。因而，溶剂选择性应该与溶剂分子的偶极矩及酸碱性有关。在图 4-1 中，酸性溶剂靠近三角形的酸性角，碱性溶剂位于碱性角的附近，而那些在与样品分子发生的作用中偶极起主要作用的溶剂，则在偶极角附近。为了改变 B 溶剂，以便有效地改变选择性，应选用与溶剂选择性三角形中旧溶剂位置不同的新溶剂。比如，乙醚靠近碱性角，CH_2Cl_2（二氯甲烷）靠近偶极角，这两溶剂在其选择性上应有显著的不同。该图对实际分析方法建立的意义在于为只用 3 种溶剂的分离提供分离度改变的基本框架。图 4-2 中的 3 种可与水混溶溶剂 ACN、MeOH、THF 的选择性（阴影部分）有很大差别，紫外吸收和粘度皆适宜，因此 3 种溶剂对于 RPC 中溶剂类型的选择都是首选。

除 ACN、MeOH 和 THF 以外，在优化选择性时，有时也使用二噁烷、丙醇、二甲基亚砜、2-甲氧基乙醇等[12]，它们可能提供有用的选择性差别，但同时也带来一些我们不希望的性质，如高紫外吸收、高柱压、纯化困难及稳定性变差等问题。

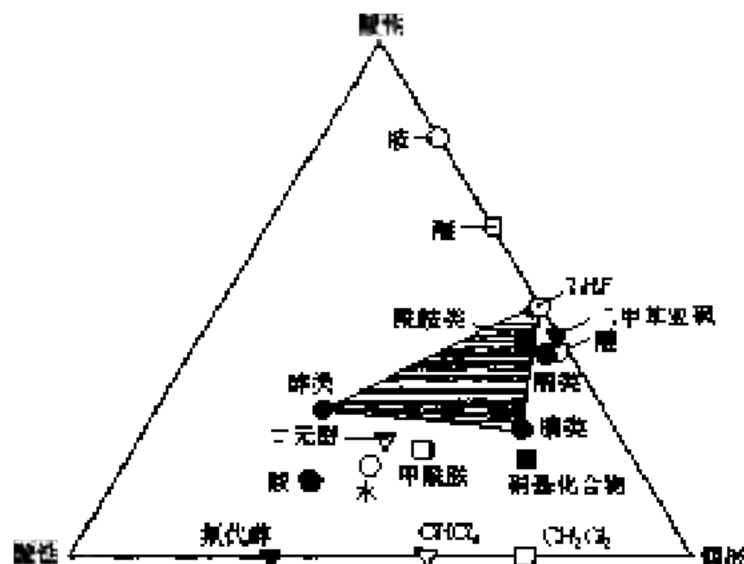


图 4-2 修正的溶剂选择性三角形[15]

当样品中溶质分子极性差别较大，同一流动相组成的等度洗脱方法不能将样品分子完全分离，或采用等度洗脱最后一个组分的保留值比第一个组分的大很多而导致分离时间超长时，可以采用梯度洗脱的方法。梯度洗脱是指洗脱过程中流动相组成发生改变的一种操作形式，通常流动相用两种溶剂，称为二元梯度，也可采用三元或四元梯度洗脱方式。梯度运行设备大体可分为两类，一类是高压梯度又称内梯度，另一类是低压梯度，也称外梯度，前者是按预先设定的程序分别用两台泵把溶剂打入混合器，混合均匀后再进入色谱柱，后者则是先把两种溶剂按一定的比例混合，随后用一台泵打入色谱柱。

梯度洗脱常用于分离溶质极性范围较大的样品，这种情况下，如果二者的比值超过1/30，则采用梯度洗脱为宜，梯度洗脱分离过程中，不同溶质保留值随流动相强度改变的变化速度不同，弱保留组分在弱流动相里先流出，而强保留组分在强流动相里后流出，作为一级近似，可以认为，在梯度洗脱中所有组分有较小的 k' 差异和相似的谱带宽度。

三、柱条件的选择

目前反相色谱中的固定相大多为化学键合的各种非极性固定相。化学键合相是借助于化学反应的方法将有机分子以共价键连接在硅胶基质上，它在很大程度上减弱了原有硅胶表面的活性作用点的强度，消除了某些可能的催化活性位点，因而耐溶剂冲洗、热稳定性好，表面改性灵活，易获得重复性好的产品。

样品保留值主要由色谱柱的三个特性决定，即柱型、键合相浓度和柱表面积。保留值依不同键合相的性质而有所不同[18-20]，并且通常随链长增加或键合相的疏水性增强而增大。例如，C_{18} 柱上的保留值通常略大于 C_8 柱上的保留值（在键合相浓度等条件相同的情况下）。对于非极性化合物通常遵循以下规则[22,23]：

（弱）非键合硅胶≪氰基<C_1（TMS）<C_3<C_4<苯基<C_8≈C_{18}（强）

溶质保留值与固定相表面积成正比，普通载体（8 nm 孔隙）的表面积约为 250 $m^2 \cdot g^{-1}$，而 30 nm 孔隙的载体的表面积约为 60 $m^2 \cdot g^{-1}$，当其他条件相同时，溶质在 30 nm 孔隙（低表面积）色谱柱上的保留值大约为 8 nm 孔隙色谱柱上保留值的 1/4(60 : 250)，因此大孔隙（低表面积）氰基柱上的保留值大大低于小孔隙（高表面积）C_{18} 柱上的保留值，小孔隙柱，如

高保留的C_{18}柱或石墨炭柱，有利于强亲水样品洗脱。

柱型的改变不仅可以导致选择性变化[7,23]，也会改变样品中不同组分的保留值。但应注意，为改变选择性和分离效果，改变色谱柱通常不如改变流动相类型见效。因此只有在改变溶剂强度或溶剂选择性仍不能达到分离要求时，才尝试改变柱类型。改变柱型后，必须重新进行流动相优化。一些研究表明，氰基、苯基、C_8、C_{18}等柱的选择性有很大差异，一般应优先考虑C_8、C_{18}柱，然后是氰基柱，再次是苯基柱。

当流动相的选择受到限制时，为了改善分离，有时必须改变柱型。例如，样品需要在较低的紫外波长下检测（λ<210 nm），流动相只能采用ACN和水，当样品的稳定性差或反应性较强时，可能还需要特殊的溶剂。相同类型柱，尽管两种柱长度和直径相同，如果来源不同，分离效果也可能不同（尤其对于离子样品）。这种选择性差别可能由所采用的硅胶、装填技术和键合类型等多种原因导致。环糊精(CD)键合柱填料用于反相色谱中，在分离对映异构体时非常有效[24,25]。与正相HPLC相比，CD键合柱对于分离异构体也是很好的选择。

第三节　离子交换色谱法

一、概　　述

半个世纪前，随着交联聚苯乙烯的出现和发展，离子交换色谱（IEC）成为当时一种重要的分离工具，主要用于原子能工业中各种裂变产物和稀土元素的分离。近来，随着HPLC的飞速发展和各种新型离子交换材料的出现，高效离子交换色谱也同时得到了很大的发展。IEC除了分离原理和所使用的固定相、流动相、及检测器与HPLC有所不同之外，所采用的技术、设备和方法与其他类型的液相色谱模式无本质区别。IEC已在化工、医药、生化、冶金、食品等领域获得了广泛的应用，特别是它在解决生物学中许多难于分离且十分重要的课题上所起了重大作用（如氨基酸、蛋白质、核酸组成的分离），受到了人们的普遍关注[24~26]。

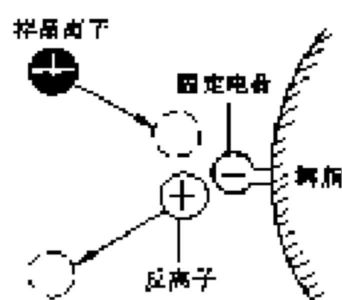


图4-3　离子交换色谱中进行的离子交换过程[26]

离子交换色谱的原理如图4-3所示，样品离子和离子交换树脂上带固定电荷的活性交换基团之间发生离子交换。由于不同样品离子对于离子交换树脂的亲和力不同，即相互作用强度不同，与树脂作用弱的溶质不易保留，首先从柱中被冲洗下来，而与树脂作用强的溶质在柱内保留时间较长，当样品中不同结构的组分通过交换柱时可以得到分离。

离子交换树脂上的交换基团可带正电荷（阳离子交换剂），也可带负电荷（阴离子交换剂），有阴离子交换色谱和阳离子交换色谱之分。

二、离子交换剂

离子交换剂是一类带有离子交换功能基团的固体颗粒，其结构为在交联的高分子骨架上结合可解离的无机基团。在离子交换反应中，离子交换剂的本体结构不发生明显的变化，而由其带有的离子与外界同电性离子发生等物质量（以当量粒子数为基本单元）的离子交换。

离子交换剂的种类很多，大部分为有机物，如各种类型的树脂，也可以是无机物如沸石，微晶高岭土和许多不溶于水的无机盐（如水合磷酸锆、钨酸锆等），表2-10中已给出了一些重

要的有机离子交换剂的类型和性质。目前，应用最广泛的离子交换剂是以交联的有机聚合物为骨架，在聚合物链上带有离子交换功能基团的离子交换树脂。近年来随着 HPLC 中以硅胶为基质的各种键合型固定相的发展，以硅胶为基质的各种键合型离子交换剂的应用也越来越广，一般由薄壳型或全多孔球型微粒硅胶表面键合上各种离子交换基团制成，主要类型见表 4-6。

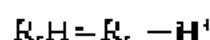
表 4-6　以硅胶为基质的键合型离子交换剂

阳离子交换剂		阴离子交换剂		两性离子交换剂
键合基团	类型	键合基团	类型	键合基团
$-SO_3H$	强酸性	$-CH_2N(CH_3)_3Cl$	强碱性	$-CH(COOH)-CH_2-CH_2-NH_2$
$-COOH$	弱酸性	$CH_2N(C_2H_5)_2Cl$	弱碱性	
$-CH_2COOH$	弱酸性	—	强碱性	$CH(OH)-CH_2-NH_2$
		$CH_2N(CH_3)_2C_2H_4OHCl$		
$-CH(CH_2OH)COOH$	弱酸性	$-CH_2NH(CH_3)_2Cl$	强碱性	
		CH_2NH_2	中强碱性	

键合相离子交换剂具有以下优点：① 硅胶骨架十分坚硬，在有机溶剂中不发生明显的收缩或膨胀，能承受几十 MPa 的压力，可以在较高的流速度下进行快速分析；② 其孔径、表面积、交换容量等物理化学参数易控制；③ 较有机高分子填料容易获得粒径 10 μm 以下窄粒度分布的微粒。

三、交联度和交换容量

聚苯乙烯-二乙烯基苯类离子交换树脂的交联度一般用存在于反应混合物中二乙烯基苯的质量百分数来表示。二乙烯基苯的百分含量高，交联度增加，从而增强了树脂颗粒的强度，并降低了它在流动相中的溶胀趋势，选择性增加，但却降低了颗粒的渗透性。交联度常注在商品名称之后用相应的数字来表示，如 Dowex 1-x8 则其交联度为 8%。交换容量是指离子交换树脂结合的可交换离子的量，通常以每克树脂可交换离子的量（mmol）表示。对于弱酸性或弱碱性的离子交换剂交换容量明显受 pH 值影响



$$R_cH = R_c^- + H^+$$



$$R_aH = R_a^+ + H^-$$

式中，R_c 为阳离子交换剂，R_a 为阴离子交换剂。从上述方程可以看出，在较低 pH 值时，平衡向左移动，酸性（阳离子）树脂的解离受到抑制，交换容量减小，如图 4-4 中曲线 A 所示。同理，在较高 pH 值时，氢离子浓度减小，OH^- 浓度相应增加，平衡也向左移动，此时碱性离子交换树脂的解离受到抑制，从而也降低其交换容量，如图 4-4 中曲线 B 所示。因此，弱酸性阳离子交换树脂只有在 pH>8 时，弱碱性阴离子交换树脂只有在 pH<6 时才有实用性。

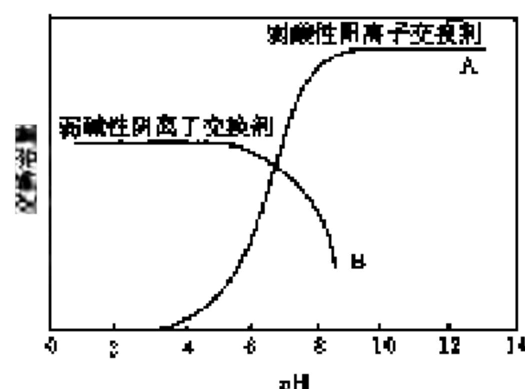


图 4-4　pH 对弱酸性和弱碱性离子交换剂交换容量的影响

强碱性和强酸性离子交换剂的交换容量对 pH 值的依赖相应较少，如图 4-5 所示。对于强碱性的阴

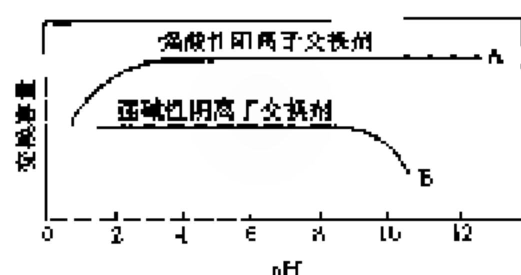


图4-5 pH对强酸性和强碱性离子交换剂交换容量的影响

离子交换剂，pH<10时，可全部离子化，显示实用的交换容量。而对于强酸性阳离子交换剂，在pH<2时，即全部离子化，因而有实用的交换容量。可见这两类离子交换剂比弱酸性和弱碱性离子交换剂所能使用的pH值范围要宽得多，这就是离子交换色谱更普遍地使用强酸性和强碱性离子交换剂的主要原因。

各种离子交换剂的交换容量除受pH值的影响外，还取决于颗粒的类型及几何形状，制备条件和方法、使用温度和环境等因素，多孔树脂的交换容量通常为（1～10）mmol·g⁻¹，而薄膜型或表面多孔型离子交换剂的交换容量一般约为（5～50）μmol·g⁻¹。

四、离子交换色谱流动相

水是优良的溶剂，具有可电离性。大部分离子交换色谱皆在水溶液中进行，采用水的缓冲液可以提供离子平衡所需的反离子，并使流动相保持一定的离子强度和pH值。有时也把少量有机溶剂，如乙腈、甲醇、乙醇和四氢呋喃等，加入到含水系统中，以便改进样品的溶解性能，并提供独特的选择性变化，有机溶剂的加入还可减小某些样品组分的拖尾现象，从而改善分离。

在以水溶液为流动相的离子色谱中，缓冲液浓度直接影响到离子的平衡反应。与液固色谱、液液色谱中的情形类似，随缓冲液浓度的增加，样品组分的保留值降低，这是因为流动相中反离子浓度的增加，与样品离子争夺树脂上离子交换基团的能力相对增强，从而减少了可与样品组分进行离子交换作用的交换基团的数目。图4-6表示在强酸性阴离子交换树脂上分离食品添加剂时流动相中盐（$NaNO_3$）的浓度对溶质相对保留值的影响。

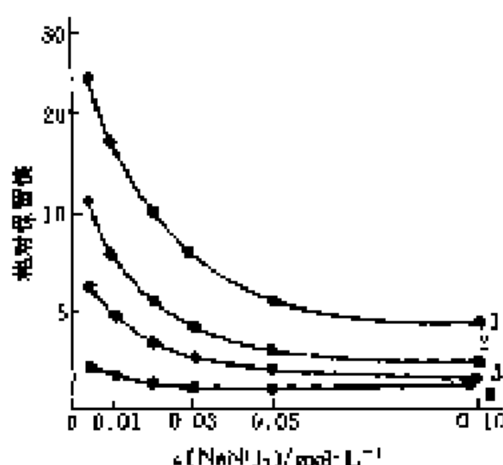


图4-6 缓冲液盐浓度对溶质相对保留值的影响[25]

1—乙基对羟基苯甲酸；2—甲基对羟基苯甲酸；3—乙基香豆醛；4—山梨酸钾

缓冲液强度的上限取决于流动相缓冲液中盐的溶解度，要避免使用接近饱和的缓冲液浓度，因为若产生盐的沉淀，会造成液相色谱仪系统的堵塞。缓冲液强度的下限由缓冲容量所决定，如果缓冲液太弱，则无法控制流动相的pH值。

由于不同的流动相离子与离子交换树脂相互作用的能力不同，流动相中的离子类型能对样品分子的保留产生显著的影响。在离子交换色谱中，广泛使用磷酸、乙酸、柠檬酸、硼酸和甲酸的钠盐、钾盐和铵盐，它们通常与其相应的酸相混合，用作碱性缓冲溶液，一般避免使用盐酸盐，因其对许多仪器的金属组件有腐蚀作用。

五、离子交换色谱的应用

离子交换色谱首先用于无机物的分离，尤其是核裂变产物的分离，目前利用IEC不仅可

以分离碱金属、碱土金属、稀土元素、镧系和锕系元素及许多重金属（如钍、铀、钪、锆、铪、铌、钼、金、铱、钼、钨、锡、铌、铼、铊等），而且许多无机和有机阴离子也可用其进行分离分析。随着各种新型、高效离子交换剂的研制成功和衍生化技术检测方法的发展，离子交换色谱在氨基酸、蛋白质、核糖核酸、有机胺、有机酸、糖类及药物等方面的应用越来越广。

和正相、反相HPLC发展的趋势相类似，近年来离子交换色谱所用的树脂颗粒变得越来越小，越来越均匀，以利于加速离子交换过程中的扩散和质量传递过程，提高柱效从而改进分离能力。

第四节　离子色谱法

一、概　　述

离子型化合物的测定是经典分析化学的主要内容。对阳离子的分析已有一些快速而灵敏的分析方法，如原子吸收光谱、高频电感等离子体发射光谱和X射线荧光分析等，而对阴离子的分析长期以来缺乏快速灵敏的方法，一直沿用经典的容量法、重量法和光度法等。

1975年，Small等人[37]在离子交换色谱的基础上发展出离子色谱。同离子交换色谱相同，样品仍然由流动相带到离子交换树脂进行洗脱分离。为了消除流动相在电导检测器上产生的大大强于样品离子的电导响应，他们在检测器与分离柱之间加入一个填充电荷与分离柱相反的离子交换树脂抑制柱，从而使流动相变成低电导组分，以降低来自流动相的背景电导；另一方面又将样品离子转变成相应的酸或碱，增加其电导响应。对阴离子的分离抑制柱填充强酸性（H^+）阳离子交换树脂，而对阳离子的分离，填充常规强碱性（OH^-）阴离子交换树脂。这一分离分析方法被称为离子色谱法。离子色谱法具有快速、灵敏、选择性好和同时测定多组分的优点，其中很多是难以用其他方法测定的离子，尤其是阴离子。离子色谱分为两大类[38]——化学抑制型离子色谱和非抑制型离子色谱。化学抑制型离子色谱又可分为高效离子色谱（简称HPIC）、离子排斥色谱（简称HPICE）和流动相离子色谱（简称MPIC）。用于三种分离方式的柱填料树脂骨架大都为苯乙烯-二乙烯基苯的共聚物，但树脂的离子交换容量各不相同。HPIC用低容量的离子交换树脂[(0.01～0.05) $mmol \cdot g^{-1}$]，HPICE用高容量的树脂[(3～5) $mmol \cdot g^{-1}$]，MPIC用不含离子交换基团的多孔树脂。三种分离方式基于不同的分离机理。HPIC的分离机理主要是离子交换，HPICE是利用离子排斥原理，而MPIC则主要利用吸附和离子对的形成。

HPIC用于F^-、Cl^-、CO_3^{2-}、SO_4^{2-}、Na^+、NH_4^+、K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Fe^{3+}、Zn^{2+}、Ni^{2+}等无机阴离子、阳离子、多价阴离子和碳水化合物的分离。HPICE用于有机酸和氨基酸等的分离以及从有机物中分离无机组分。MPIC主要用于疏水性阴、阳离子的分离以及金属络合物的分离。

二、离子色谱仪简介

离子色谱仪由流动相贮器、泵、进样阀、分离柱、抑制柱、电导检测器和数据处理等部分组成，见图4-7。由于所使用的流动相都是碱性或酸性物质，因此其设备需要使用化学惰性材料，如玻璃、聚四氟乙烯等，以防止被腐蚀。商品化离子色谱仪大多采用全塑料系统和无脉冲双柱塞泵，用微处理机控制泵流量和色谱柱温度补偿，以及在0～14的整个pH值范围内性能稳定的柱填料和液体管道系统这是现代离子色谱仪的主要特点。金属泵和金属柱虽然会

带来金属离子的污染，不能用于高精度($\mu g \cdot L^{-1}$数量级)金属离子的测定。为了能同时分离和测定阳离子和阴离子，较为先进的离子色谱仪，一般都采用双柱双流路、阀切换系统和抑制柱再生系统，并带有自动进样和梯度洗脱装置。采用低容量的离子树脂装填分离柱并且不采用抑制柱直接联结电导检测器，同时选用低电导的流动相，不仅能有效地洗脱各种阴、阳离子，而且背景电导较低。根据这个原理发展出了商品化的单柱离子色谱仪，以区别于带抑制柱的双柱离子色谱仪。

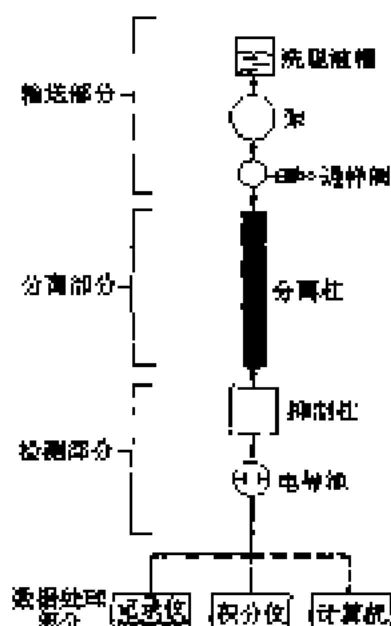


图 4-7 离子色谱装置流程图

三、分 离 柱

离子色谱的最重要部件是分离柱，柱管采用化学惰性材料制成。高效柱和特殊性能分离柱的研制成功，是离子色谱迅速发展的关键。通常采用"表面薄壳型"的离子交换树脂为填料。一般是将苯乙烯-二乙烯基苯表面进行磺化处理，生成厚度为几十纳米的磺酸型官能团，作为阳离子交换柱的填料，由于颗粒中心由坚实的聚合物分子构成，离子交换作用只在表面进行，因此有较高的分离效率，其交换容量通常在0.02 $mmol \cdot g^{-1}$左右。而阴离子交换柱的填料通常是在上述表面磺化的薄壳型阳离子交换树脂上，采用物理或化学的方法（如凭借静电引力和范德华力）牢固地覆盖上一层粒度更小的阴离子乳胶微粒[粒径一般为(0.05～0.4)μm]制成。这种树脂（图 4-8）实际上由内部的惰性核、磺化层和阴离子交换粒子层三层结构组成。表皮结构的树脂和低的交换容量使这种固定相能在相对低的洗脱剂浓度中分离各种阴离子，并在相对高的流速下进行操作，既可缩短分析时间，又有较长的柱使用寿命。

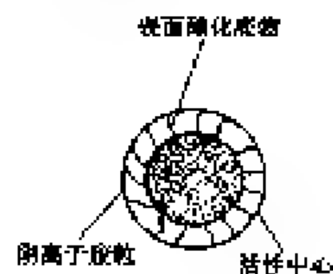
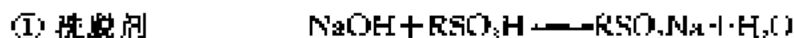


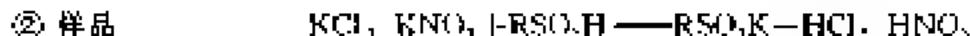
图 4-8 阴离子交换树脂的结构

四、抑 制 柱

抑制柱分为三种类型，即填充型、中空纤维型和微膜型抑制器[20]。抑制柱的作用为抑制洗脱剂的背景电导，并将样品离子转换成具有高电导的物质，并由高灵敏度电导检测的装置得到测试结果。阴离子分析用的抑制柱，一般采用强酸性的阳离子交换树脂制成。洗脱剂阴离子和样品阴离子与抑制柱上的氢离子进行交换，使其转换成具有高电导的对应酸，而碱性洗脱剂中的氢氧根离子交换成具有低电导的水，反应如下：



① 洗脱剂　　$NaOH + RSO_3H \longrightarrow RSO_3Na + H_2O$



② 样品　　$KCl、KNO_3 + RSO_3H \longrightarrow RSO_3K + HCl、HNO_3$

到达以水为背景电导的电导检测池中的样品形态为高度离子化的酸根，实际上除了NaOH以外，经常使用的洗脱剂是$NaHCO_3$缓冲溶液，在抑制柱中可以被转换为低电导的碳酸。抑制柱一般都采用具有高交换容量的树脂，以便有效地积聚洗脱剂中的阳离子而基本不影响分离柱上已经获得的分离结果。

洗脱剂和样品阳离子的聚集是连续进行的，直到抑制柱上活性中心全部被饱和，树脂完全处于Na^+型(或K^+型)，这时需要对抑制柱进行再生。一般用泵使0.125 $mol \cdot L^{-1}$的H_2SO_4溶液通过柱子，由于硫酸中的氢离子质量小，具有更高的活性，Na^+会从树脂上被顶替掉，使

它又重新转换为原来的氢离子型，完成再生。

阳离子分析用抑制柱，一般使用带 OH^- 交换基团的强碱性阴离子交换树脂，以使洗脱剂和样品中的阴离子与抑制柱的 OH^- 进行交换。例如用 HNO_3 作洗脱剂，在阳离子分离柱上分离 $NaNO_3$ 和 KCl 的混合物时，在抑制柱上就会发生如下的反应：



① 洗脱剂　　　　$NaNO_3+ROH \longrightarrow RNO_3+H_2O$



② 样品　　　　$KCl,\ KNO_3+ROH \longrightarrow RNO_3,\ RCl+KOH$

由上两式可以看出，抑制柱将洗脱剂中具有高电导性的 H^+ 转换成为低电导的水分子，而将样品中的阳离子转换成具有高电导性能的氢氧化物。需要注意的是，一些弱碱（如铵离子）的保留时间和峰高可能会受到抑制柱消耗程度的影响，即受树脂上的 OH^- 被中和程度的影响。实践证明，使用中等交联度的树脂（如 8%交联度）比用高交联度的（如 12%）有利，前者可使上述的影响程度减小到最小，并且可以改进容易电离物质的分离效能。表 4-7 列出了在离子色谱中所经常使用的洗脱剂及其在抑制柱上进行的反应。

表 4-7　离子色谱使用的洗脱剂及相应的抑制反应[illegible]

洗　脱　剂	洗脱剂离子	抑制柱树脂	抑制反应的产物
阴离子分析			
NaOH	OH^-	R^-H^+	$R^-Na^++H_2O$
苯酚钠	ϕO^-	R^-H^+	$R^-Na^++\phi OH$
Na_2CO_3, $NaHCO_3$	CO_3^{2-}/HCO_3^-	R^-H^+	$R^-Na^++H_2CO_3$
谷氨酸钠盐	glu^{2-}	R^-H^+	$R^-Na^++R\text{-}gluH$
阳离子分析			
HCl	H^+	R^+OH^-	$R^+Cl^-+H_2O$
$AgNO_3$	Ag^+	R^+Cl^-	$R^+NO_3^-+AgCl\downarrow$
$Cu(NO_3)_2$	Cu^{2+}	RNH_2	$RNH_2\cdot Cu(NO_3)_2$
吡啶・HCl	PyH^+	R^+OH^-	$R^+Cl^-+Py+H_2O$
苯胺・HCl	NH_3^+	R^+OH^-	$R^+Cl^-+\phi NH_2+H_2O$
对苯二胺・HCl	$p\text{-}PDAH_2^{2+}$	R^+OH^-	$R^+Cl^-+p\text{-}PDA+H_2O$
间苯二胺・HCl	$m\text{-}PDAH_2^{2+}$	R^+OH^-	$R^+Cl^-+m\text{-}PDA+H_2O$

注：glu——谷氨酸根，Py——吡啶，φ——苯环，PDA——苯二胺。

五、检　测　器

离子色谱检测器分为电化学检测器和光学检测器两大类。前者主要包括电导检测器和安培检测器两种，其中电导检测器最为常用。后者包括紫外-可见和荧光检测器等，一般可以用正相或反相液相色谱的光学检测器在这里皆可以采用。

电导检测器可直接连于分离柱后，测定流过检测池流体的导电率，通过调整流动相性能，这种检测器可用于大多数离子样品的检测。当采用低电导率的有机酸溶液作为流动相时，一般样品离子的导电率大于流动相，可以得到正常色谱峰。反之，如果样品离子电导率小于流动相本底电导率，样品流出为负色谱峰。样品离子浓度与电导率差成正比。

安培检测器有单电位安培检测器和三电位安培检测器[1]两种。单电位安培检测器可以测定 $\mu g \cdot L^{-1}$ 级的电化学活性成分，如 CN^-、S^{2-} 等。三电位安培检测器也称脉冲安培检测器，除工作电极外，另加两个清洗电极，以避免电极中毒，可测定采用单电位安培检测器不能测定的某些样品，如糖类和醇类等。

光学检测器如紫外-可见检测器与普通液相色谱中所采用的相应检测器无明显区别。对于

无紫外吸收或紫外吸收较弱的样品离子，可以在分离柱后引入薄膜反应器，使被测离子在进入检测器之前先在薄膜反应器中与显色剂发生显色反应。薄膜反应器具有特殊结构，能够使显色剂与样品离子充分混合并使显色反应迅速完成。这种检测器主要用于过渡金属、重金属和稀有元素的测定。

荧光检测器主要用于可以产生荧光的样品离子的测定。一般通过衍生化的方法使样品与荧光试剂反应生成衍生物，进而进行检测。衍生化可以在柱前，也可以在柱后完成。这种方法可以使检测灵敏度有较大提高，常用于痕量氨基酸样品的测定。

第五节　离子对色谱法

一、概　　述

离子对色谱是将与被分析离子带相反电荷的离子（称配对离子或反离子）加到流动相中，与溶质离子结合形成弱极性离子对，此离子对在水（流动相）中不易离解而迅速转移到有机相（键合相）中，遂而在固定相和流动相间进行分配，最终实现分离的一种色谱模式。

现代离子对色谱法从70年代初期发展起来，主要可分成两种类型[7]——正相离子对色谱法和反相离子对色谱法。在正相离子对色谱中，含有离子对试剂的水溶液被涂渍到硅胶表面和孔隙中，流动相是与水不相溶的有机溶剂。早期的反相离子对色谱法选用的固定相为有机溶剂涂渍到载体表面上的非键合型固定相，流动相为极性很强的包含有离子对试剂的含水有机溶液。70年代中期起，各种液相色谱法都开始采用化学键合固定相，早期发展起来的反相和正相离子对色谱法由于固定相涂渍过于麻烦且稳定性差，已被逐步淘汰。现在最常用的是反相离子对色谱法，选用的固定相绝大部分是化学键合型的非极性表面固定相（如C_{18}和C_8）。反相离子对色谱法兼有反相液相色谱和离子色谱的特点，它保持了反相液相色谱操作简便、分离柱效高等固有的优点，而且能同时分离离子性和中性化合物的混合样品。可以说离子对色谱法是离子色谱和反相色谱的拓展和延伸，因此，在一些离子色谱书籍中，这一技术被称之为流动相离子色谱法。离子对色谱的流程和基本设备与最常用的反相色谱法的设备完全相同，操作过程也与反相色谱法相同；选用的检测器可以是反相色谱中常用的紫外、荧光等检测器，也可选用离子色谱法用的抑制电导、电化学等检测器。反相离子对色谱法与反相色谱法的不同之处只是在反相色谱采用的流动相中加入了适当的离子对试剂。

应当指出的是离子对色谱法是为了适应实际样品，尤其是生化和医药样品分离分析的需要而发展起来的，它与其他液相色谱技术各有所长，相互补充。离子对色谱法在生化、医药、食品、化工和环境保护等领域获得越来越广泛的应用。

二、色谱柱的选择

对于一般的离子对色谱分离系统，高键合量10 μmC_{18}载体的填充柱或5 μmODS C_{18}载体填充柱为首选分离柱，此外，高键合量的C_8柱也可作为离子对色谱分离柱。C_{18}柱尺寸在250 mm×4.5 mm左右比较适宜。

同在反相色谱中对色谱柱的讨论，尽管至今从理论上还很难阐明不同厂家和批号固定相的差异对分离效果的具体影响，但已有许多证据说明填料的键合量及键合碳链的构型对离子对色谱的分离选择性可以产生影响。因此，一般情况下，对于特定样品，根据文献的分离条件很难得到重复的结果，即便是在同一个实验室中，在同型号的不同色谱柱上结果也可能差

别很大。

三、离子对试剂的选择

离子对试剂的种类和浓度对分离效果都有较大的影响。离子对试剂种类的选择依赖于被分离样品的性质，表 2-4 已给出了离子对试剂选择的一般原则，表 2-4 也列出了被分离样品的种类与所选用的离子对试剂种类匹配的参考方案。

被分离溶质是强酸或强碱，离子对试剂可以是强碱、弱碱或强酸、弱酸，如被分离的溶质是弱酸或弱碱，则选用的离子对试剂必须是强碱或强酸。对于溶质结构性质相差较大的混合样品，离子对试剂种类的选择并没有特殊要求，离子对试剂疏水性的差别可以通过调节离子对试剂浓度和有机溶剂浓度获得满意的分离效果，如被分离物质的结构性质很相似，离子对试剂的选择也可能对分离选择性发生作用。如十二烷基硫酸盐和十二烷基磺酸盐对儿茶酚胺的分离表现出不同的选择性。这种差别至今很难从理论上获得完善的解释，只有通过实验比较进行摸索。对于疏水性较强的离子对试剂，浓度在 (4～10) mmol·L^{-1}范围比较适宜，对疏水性较弱的离子对试剂，浓度在 (10～40) mmol·L^{-1}范围比较适宜。

四、有机溶剂的选择

虽然有机溶剂疏水性对保留值有较大的影响，但溶剂类型（甲醇、乙腈、四氢呋喃）的改变一般不用来改变分离选择性。多数情况下，改变溶剂类型只能产生峰间距的较小改变，但在一些特殊的研究中，通过溶剂类型改变也可能会得到选择性的较大改变。

有机溶剂是调节溶质在离子对色谱中保留值的重要参数。在反相离子对色谱中，有机溶剂对保留值的影响主要通过改变溶质与流动相间的相互作用和离子对试剂在固定相表面的吸附量来实现。因此有机溶剂种类的差别对保留值的影响可以由有机溶剂浓度的改变来补偿。表 4-8 给出了烷基磺酸盐阴离子离子对反相色谱中的溶剂强度之间的关系。例如，若 20%甲醇可获得较好的保留值范围，则 6%乙腈或 4%THF 应具有相近的运行时间。

表 4-8　烷基磺酸盐离子对反相色谱中的溶剂强度关系[①]

甲　醇	乙　腈	THF	甲　醇	乙　腈	THF
0	0	0	50	32	30
10	4	1	70	39	(40)
20	6	4	80	(46)	(51)
40	13	6	90	(53)	(64)
[illegible]	19	14	100	(60)	(76)
50	25	21			

① 表中数值为该有机溶剂在水溶液中所占的体积百分数。

五、无机盐浓度的影响

无机盐浓度的增大将降低溶质在反相离子对色谱中的保留值，这主要由与溶质电荷相同的离子与溶质竞争吸附或竞争与离子对试剂配对，来减弱溶质与离子对试剂的相互作用而产生。盐浓度对保留值的影响一般比有机溶剂和离子对试剂的影响小。在其他条件恒定时，改变盐的种类对保留值也有一定影响。无机盐浓度控制在(10～50) mmol·L^{-1}比较合适。有研究表明，无机盐浓度梯度冲洗可以改善复杂样品的分离度。

六、pH值的影响

对于酸性溶质，pH≥pka时，溶质将以离子状态存在，此时，离子对试剂对保留值发挥非常重要的作用，而当pka≥pH时，溶质将以中性状态存在，离子对试剂对保留值几乎无作用，pH值对有机碱保留值的影响与对有机酸保留值的影响恰好相反，与反相色谱中pH值的影响相似，pH值是影响保留值和选择性的最重要的因素之一。因此，在反相离子对色谱中，选择合适的缓冲液，使被分离物质以所需要的状态存在是非常必要的，值得注意的是，在特定pH值下，某些被分离溶质没有完全解离，酸碱平衡的慢动力学过程可能引起峰的分裂和展宽。

七、柱温的选择

随着柱温升高，反相离子对色谱中的保留值下降，但柱温对保留值的影响没有像有机溶剂、离子对试剂和pH值以及盐浓度那样明显。在一般情况下，室温就可以满足离子对色谱的分离要求，必须注意的是柱温对某些样品的分离条件优化很有帮助。

八、氨基改性剂

对于碱性样品分离中选择性的改变，可在IPC流动相中加入氨基改性剂，这时离子对试剂将成为阴离子（如烷基磺酸盐），氨基改性剂与烷基磺酸盐容易形成离子对，因此会中和其效果，显然，加入氨基改性剂或降低离子对试剂浓度可同样地改变选择性。但是还没有实例说明通过使用氨基改性剂实现对选择性的控制。

第六节　凝胶色谱法

一、概　　述

凝胶色谱又称尺寸排阻色谱或分子筛色谱，它是按溶质分子大小进行分离的一种色谱技术。溶质流出凝胶柱的速率取决于其分子的大小和凝胶阻滞作用的差异，比载体基质孔径大的样品分子不能进入孔内，被排阻，很快地从柱子空隙中被洗脱出来；比载体基质孔小的分子进入孔内，由于流程长，移动速度慢，因而停留时间较长，在正常情况下，溶质按分子由大到小递减的次序被洗脱出来。凝胶色谱按流动相类型的不同可以分为两类，当流动相为有机溶剂时称凝胶渗透色谱（GPC）；当流动相为水溶液时，称为凝胶过滤色谱(GFC)。

凝胶色谱作为一种快速的分子量和分子量分布测定方法，十几年来一直是一个非常活跃的研究课题[32]。无论在凝胶制备、仪器技术性能、数据处理或理论研究上都取得较大进展。它的应用范围逐步从生物化学、高分子化学、无机化学向其他领域渗透，已经成为化学领域内一种重要的分离手段。

二、凝胶色谱仪

1965年第一台商品化凝胶色谱仪问世后，各种型号的GPC仪器及两用型液相色谱仪陆续出现，随着高灵敏度检测器及新型微粒凝胶的采用，凝胶色谱仪也正向高效凝胶色谱过渡。图4-9说明了一般凝胶色谱仪的运行流程。

从贮液瓶（大约10 L）出来的溶剂经加热式除气器除去溶解的气体后进入柱塞泵，由泵压出的溶剂再经一个烧结的不锈钢过滤器，通过控制阀分别进入参比流路和样品流路。在参

比流路中溶剂经参比柱、示差折光检测器的参比池进入废液瓶。在样品流路中，先经六通进样阀将配好的试样送入色谱柱，样品经色谱柱分离后经示差折光检测器将浓度检测信号输入记录系统。体积标记器每充满一定体积（3 ml 左右）虹吸一次，以光电信号输入记录系统，在流出曲线上作一相应记录。最终得到反映被测量高聚物分子量分布情况的凝胶色谱图。

三、凝胶的选择

凝胶是凝胶色谱的核心，是产生分离作用的基础。进行凝胶色谱实验的重要一环是选择和搭配具有不同孔径的色谱性能良好的凝胶。根据凝胶材料的不同，可分为有机和无机凝胶两类。不同凝胶在装柱方法、使用性能上各有差异。在实际工作中，可以根据凝胶的色谱指标，即渗透极限和分离范围进行选择。

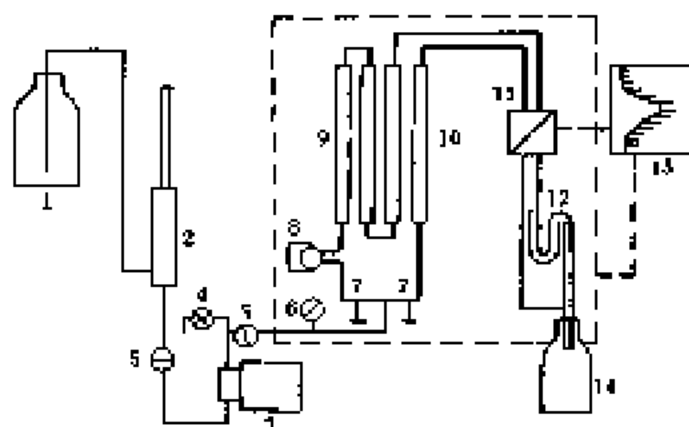


图 4-9　GPC 流程图

1—贮液瓶；2—除气器；3—输液泵；4—放液阀；5—过滤器；6—压力表；7—调节阀；8—六通进样阀；9—样品柱；10—参比柱；11—检测器；12—体积标记器；13—记录仪；14—废液瓶

生物大分子分离的传统方法多采用多糖聚合物软胶 GPC 填料，这种填料只能在低压、慢速操作条件下使用。目前在很大程度上已被新型交联亲水硅胶（如交联琼脂糖 Superose6、12）、乙烯共聚物（如 TSK-Gel PW）和亲水性键合硅胶（如 Zorbox GF250、450）取代。填料具有一定的孔径尺寸分布，随孔径大小的差别，分离分子量范围在 1 万到 200 万之间，对于实验室分析或小规模制备，平均粒度在（3～13）μm 的填料，一般有良好的柱效和分离能力，但对于大规模制备和纯化，考虑到成本和渗透性，可选用较粗的粒度。

四、溶剂的选择

在凝胶色谱中洗脱剂的组成并不直接影响分离度，完全不带电荷的物质也可以用蒸馏水作洗脱剂。带电功能团的洗脱可用 Tris-HCl、磷酸钠等缓冲液体系。例如，对 Sephadex 和 Sepharose 选用的洗脱剂的离子强度至少为 0.02，对 Sephacryl HR 是 0.15。为防止离子与凝胶基体的相互作用，可以选用 NaCl 进行调节，应注意，在低离子强度的溶液中，蛋白质可能发生沉淀。如果制备的产物最终需进行冻干等处理，则可采用乙酸铵、碳酸氢铵或乙二胺乙酸盐等挥发性缓冲液。

在凝胶过滤色谱中，首先应考虑洗脱剂对试样分子的影响。解释实验结果时，应把凝胶类型、性质、缓冲液的 pH 和离子组成、离解介质或表面活性剂的影响等问题一起考虑进去。此外，所选用溶剂宜尽可能不含能腐蚀金属组件的氯离子等，溶剂应与检测器相匹配。可供凝胶色谱选用的流动相有水、乙醇、二甲基甲酰胺、二氧六环、二甲基亚砜、丙酮、氯仿、二氯乙烷、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、乙酸乙酯和甲苯等，应尽可能采用纯度高、毒性低、溶解性能好、黏度低并已知粘度方程式中 K 和 α 参数的溶剂，一般凝胶色谱常用的溶剂及性质列于表 4-9 中。

使用过的溶剂必须经过蒸馏方可再用，新蒸馏后的溶剂应不含水分及过氧化物，处理好

的溶剂放在阴凉处保存，防止因强光照射而产生过氧化物。

表 4-9 凝胶色谱常用溶剂

溶剂	使用温度/℃	适用聚合物体系
四氢呋喃	室温~45	一般聚合物样品(聚氯乙烯，聚苯乙烯)，聚丙烯酸、芳香环氧聚醚、纤维素，橡胶
氯仿	室温	硅酮、四氟乙烯聚合物
间甲酚	20~135	聚酯、聚酰胺、聚氨酯、纤维、尼龙
邻二氯苯	135	聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯
四氢萘	135	聚烯烃
二甲基甲酰胺	室温~85	聚丙烯、纤维素、聚氨酯
二氯甲烷		主要适用于聚碳酸酯
一氯甲烷		聚丁二烯，丙烯腈、聚氨基甲酸酯
三氯乙烷		主要适用于氯丁橡胶
甲苯	室温~70	弹性体和橡胶

五、凝胶色谱的应用

由于凝胶色谱可以分离从小分子起直到分子量达 10^6 u 以上的高分子，原则上所有能形成溶液的高聚物都可采用凝胶色谱法测定其分子量分布和各种平均分子量。其应用也深入到高分子链组成和相应物化性质的研究，用途很广[17,19~27]。凝胶色谱在高聚物的生产及研究工作中的应用大致可分为五个方面。

(1) 在高聚物材料生产过程中的应用　包括聚合反应机理的研究以及聚合条件对产物性质的影响和控制。

(2) 在高聚物材料的加工及使用过程中的应用　研究分子量及分子量分布与加工、使用性能的关系，助剂在加工和使用过程中的作用及老化机理的研究。

(3) 作为分离和分析的工具　主要应用在石油及表面活性剂和涂料工业方面。

(4) 表征多孔膜材料的形态结构　用截留分子量法得出表示膜渗透性能的分子量曲线，研究膜孔分布。

第七节　亲合色谱法

一、概　述

亲和色谱法是一种利用生物大分子间专一的亲和力进行分离、分析和纯化的液相色谱技术。生物分子之间，如酶与底物、酶与抑制剂、酶与变构效应剂、酶与辅酶、激素与细胞受体，维生素与结合蛋白，基因与核酸、抗体与抗原、外源凝集素与红血球表面的抗原等，它们相互之间均有专一的特殊亲和力，能形成可逆络合物。亲和色谱就是利用这种可逆络合物结合与解离的原理而发展起来的分离、分析和纯化技术[28,29]。

亲和色谱填料由基质、伸长臂和具有特殊亲和力的配基组成。将酶、抗原或激素等具有特殊亲和力的生物大分子作为配基，通过伸长臂（又称间隔臂，spacer arms）键合在基质上。这种固定化的配基只能和与其有生物专一亲和的生物大分子产生相互吸附而使后者被保留，没有特异吸附的分子则不被保留而先流出色谱柱。然后，改变流动相组成或 pH 值，将保留在柱上的生物大分子洗脱下来，达到分离或纯化的目的。分离过程示意图见图 4-10。

通过亲和色谱可以纯化酶、抗体、抗原、结合蛋白、辅助蛋白和抑制蛋白，可以分离细胞和病毒、变性蛋白和化学改性蛋白，核酸和核苷以及浓缩低浓度的蛋白质溶液（如血清结合物和转运蛋白）等，也可以作为分离分析方法[17-20]。由此可见，亲和色谱在生命科学的研究中起着重要的作用。利用亲和色谱分离某一生物大分子首先必须寻找能被该分子识别和可逆结合的生物专一性物质（配基），然后把配基共价结合到载体上，使配基固定化，最后把有固定配基的载体填充到柱内，做成亲和柱。

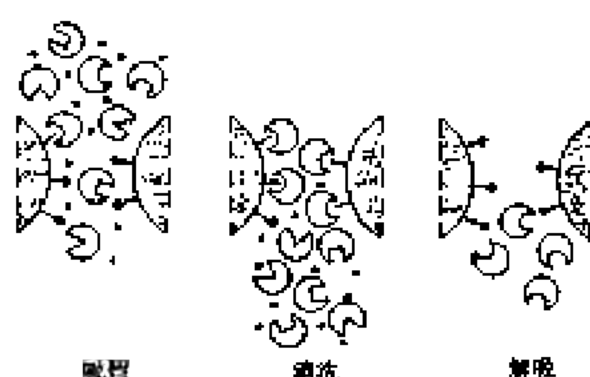


图 4-10 亲和色谱分离过程示意图

二、基质的选择

选择合适的基质是亲和色谱能否成功完成分离目的的基础。理想的基质应具备若干条件：第一，有大的比表面，多孔网状结构，易于大分子渗透；第二，有一定硬度，颗粒均匀；第三，有相当数量可供偶联反应的基团；第四，有足够的化学稳定性，能经受住吸附、洗脱和再生；第五，没有特异吸附和非特异吸附作用；第六，不受微生物的侵蚀，不溶解；第七，亲水但不溶于水。表 4-10 给出了常用载体基质适用的 pH 值范围。

表 4-10 载体基质适用的 pH 值范围

材　　料	pH 值范围	材　　料	pH 值范围
交联琼脂糖	2~14	羟乙基甲基丙烯酸酯	2~12
纤维素	1~14	环氧乙烷丙烯酸聚合物	2~13
葡聚糖	2~14	苯乙烯-二乙烯基苯聚合物	1~13
硅　胶	<8.5	聚乙烯醇	1~14
玻　璃	<8	N-丙烯基-2-氨基-2-羟甲基-1，3-丙二醇	1~11
聚丙烯酰胺	3~10	聚四氟乙烯	pH 无影响

三、配体的选择

配体必须对分离和纯化对象具有专一的亲和力。配体种类繁多，如苯基硼酸、外源凝集素、染料、蛋白质和单克隆抗体等，在亲和色谱中可用作配体的大分子及对应的可纯化的蛋白质见表 4-11。更具体的配体物质及应用见表 4-12。

表 4-11 亲和配体和纯化的蛋白质

固 定 化 配 体	能 纯 化 的 蛋 白 质
二价和三价金属离子	具有丰富组氨酸、色氨酸和半胱氨酸残基的蛋白质
凝集素	病毒，细胞
糖　类	凝集素
反应性染料	大部分蛋白质，包括核苷酸结合蛋白质
肝素	核苷酸、聚合酶和其他核酸结合蛋白质
氨基酸（如赖氨酸、精氨酸）	蛋白酶
核苷酸（辅因子、底物和抑制剂）	酶
蛋白质 A、蛋白质 G	免疫球蛋白
激素、药物	受　体
抗　体	抗　原
抗　原	抗　体
植物血球凝集素	糖蛋白
间氨基苯硼酸	血红蛋白

表 4-12　亲和配体及其应用

配　体	应用对象
腺　苷	腺苷激酶，脱氢酶
腺苷-5-二磷酸(ADP)	肌球蛋白、己糖激酶、腺苷二磷酸酶
腺苷-5-单磷酸(AMP)	[illegible]、青霉素化酶、氧化型辅酶I，脱氢酶
辅酶 A(COA)	COA 转移酶和乙酰 COA 酶
氧化型辅酶(NADP+)	脱氢酶
脱氧胸腺核苷酸-纤维素(P-牛胸腺脱氧核糖核酸)	脱氧核糖核酸聚合物、核酸外切酶、天然脱氧核糖核酸结合蛋白
脱氧核糖核酸-纤维素(变性小牛胸腺脱氧核糖核酸)	核酸外切酶、脱氧核糖核酸酶、脱氧核糖核酸结合蛋白、几种脱氧核糖核酸聚合酶
脱氧核糖核酸-琼脂糖	哺乳动物病毒、防止物病毒、核苷酸序列、14 多核苷酸激酶、脱氧核糖核酸酶
聚肌苷酸胞苷酸-琼脂糖	核苷酸聚合系统中模板及病毒干扰素的诱导
生物素	抗生物素蛋白、乙酰-辅酶 A、羧化酶
维生素 B_{12}	维生素 B_{12} 结合蛋白、核糖核酸还原酶、丙酰丙二了
核黄素	卵白核黄素蛋白，黄素酶、丝乙酸脱氢氧化酶
叶酸及叶酸类似物	叶酸结合蛋白、几种二氢叶酸还原酶
血红素	血清蛋白、血液结合素
硫辛酰胺	硫辛酰胺脱氢酶，[illegible]
焦磷酸硫胺素(TPP)	大肠杆菌硫胺素结合蛋白、大肠杆菌丙酮酸氧化酶
L-天门冬氨酸	天冬氨酸酶、天冬酰胺酶
L-精氨酸	白纤维蛋白溶酶原、转移核糖核酸分级分离
L-苯丙氨酸	r 球蛋白、凝血酶、苯丙氨酸转移核糖核酸合成酶
L-色氨酸	胰凝乳酶、羧肽酶 A
L-酪氨酸	酪氨酸转移核糖核酸合成酶

四、洗脱条件选择

生物大分子的分离与纯化大多采用柱色谱法，即将亲和填料装填在色谱柱内，将待分离的溶质在一定条件下通过柱子。为了获得好的分离效果，要注意选择合适的缓冲液及其 pH 值、合适的离子强度和操作温度。在洗脱前，应将试样与填料平衡一段时间，由于固定化配体和生物大分子之间达到吸附平衡的速率是很慢的，因此，给予足够的平衡时间，不仅可提高特异性吸附效果，而且有利于改善分离度，否则，有可能使被分离组分与杂蛋白质一起流出。亲和填料吸附能力随温度增加而减少，因此利用不同的温度进行吸附和洗脱，有利于蛋白质的纯化。

当样品中蛋白质浓度较高时，如果流速很快，则互补酶会和杂蛋白一起流出；相反，样品中蛋白质浓度较低时，虽然流速很快，互补酶仍保留在柱上。样品体积根据它在填料上的亲和力的不同而不同，生物大分子与配体亲和力强时，进样体积要求不太严格，反之，进样体积应小些。

五、亲和色谱的洗脱方法

1、特异性洗脱法

选用通用的配体填料，对性质相似的生物大分子有相似的亲和性，因此给分离带来了困难，需要应用特异性洗脱。凡是能与配体竞争的酶的游离配体，都十分强烈地影响结合酶的洗脱，游离配体浓度若与配体浓度相同，则可直接从亲和填料上洗脱结合酶，洗脱酶的浓度视酶与配体亲和力的大小而定，亲和力大，则浓度高，反之亦然。通常选择对纯化酶有高的

亲和力，但其结构与填料上的配体不同的配体来洗脱，使非特异性洗脱减到最低程度。

2. 非特异性洗脱法

非特异性洗脱主要受缓冲液的pH值、离子强度、温度和介电常数控制。洗脱液最好是既能改变蛋白质的构象以降低蛋白质与配体的亲和力，同时也不损害蛋白质和吸附剂的稳定性。实验表明，只需改变上述任何一种物理量，即可改变洗脱力。如仅改变pH值，就可以使吸附蛋白质洗脱；将pH值从7.6降到3.0，可将胰蛋白酶从豆胰蛋白酶抑制剂上洗脱；甘氨酸-盐酸缓冲液（pH2.5）可解离抗原抗体复合物；从亲和力很强的填料上解离蛋白质时需要比较强的酸或比较强的碱，若加入蛋白质的变性剂盐酸胍，则利于蛋白质的解离；同时改变洗脱液的离子强度使复合物解吸，也是一种十分方便的洗脱方法。

第八节　超临界流体色谱

一、概　　述

超临界流体色谱是以超临界流体做流动相的色谱过程，超临界流体是指物质在高于其临界点，即高于其临界温度和临界压力时的一种物态，这种形态的物质兼有气体的低粘度、液体的高密度以及介于气液之间的扩散系数等特征。理论上讲，用超临界流体做流动相的色谱过程，既可分析气相色谱不适应的高沸点、低挥发性样品，又有比高效液相色谱有更快的分析速度和更高的柱效率，超临界流体色谱可以选用气相色谱或高效液相色谱用的检测器，与质谱、傅里叶变换红外光谱等在线联用也较方便[40-41]。

图4-11是以二氧化碳做流动相的超临界流体色谱流程，高压二氧化碳的压力一般为(6.0～7.0) MPa，由气源(1)经净化管(2)（净化管内装已活化的硅胶、活性炭等吸附剂以去除其中有机物）净化后经开关阀(3)进入高压泵(4)，并由高压泵压缩至所需压力，然后经热平衡柱(5)到进样阀(6)，样品由进样阀导入系统，部分经分流阀(7)分流，另一部分经色谱柱(8)分离后，经限流器(9)进入检测器(10)，整个系统由微处理机(11)控制。微处理机控制柱温、检测器温度、流动相的压力或密度，同时采集检测器的信号进行定性、定量结果计算，并由显示打印装置(12)给出色谱图和定性、定量报告。

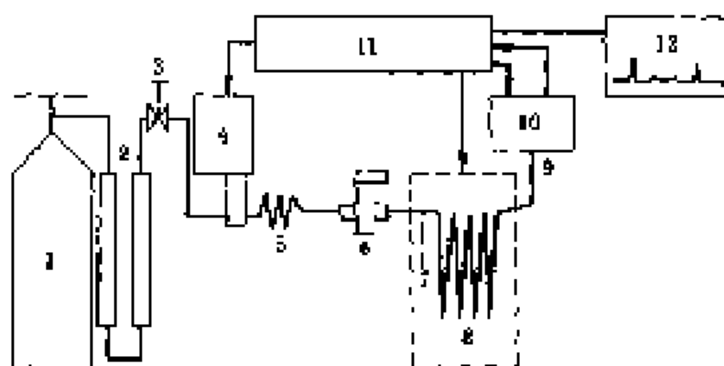


图4-11　二氧化碳做流动相的超临界流体色谱流程图

1—气源；2—净化管；3—开关阀；4—高压泵；5—热平衡柱；6—进样阀；7—分流阀；8—色谱柱；9—限流器；10—检测器；11—微处理机；12—打印装置

二、超临界流体色谱的流动相

在超临界色谱的实验工作中，至今被最广泛使用的流动相是二氧化碳，它的临界参数比

较合适，在临界压力下20℃左右时是液体，柱温(40～50)℃时已超过了临界温度。它的临界压力、临界密度也较合适，在40.0 MPa时即可达到高密度，从而有较大的溶解能力。它容易纯化，成本低，无毒，不燃烧，不爆炸，纯态时不腐蚀。化学稳定性和惰性都较好，与不同检测方法匹配的性能也较好，是个较理想的弱极性流动相。其他的非极性、弱极性流动相还有烃类、氟氯烃、六氟化硫、氙气、氧化亚氮等。氟氯烃流体对多环芳烃分离有较好的选择性。适用六氟化硫流体并匹配傅里叶变换红外光谱检测器可补充二氧化碳流体红外光谱的信息。氧化亚氮流体的临界参数和二氧化碳十分接近，因此和二氧化碳流体相比，其特点不明显。氙气是单分子气体，无红外吸收，所以用傅里叶变换红外光谱做检测器较理想。氙气的致命缺点是价格太贵。超临界氨是极性流体，对极性物质是好的流动相。胺类、氨基酸、二肽、三肽、单糖、二糖、核苷等用氨做流动相时也能很快地流出。但氨气是化学性质活泼的组分、有毒、可燃、腐蚀、爆炸，而且对固定相的要求十分苛刻，目前仅有正辛基和正壬基的聚硅氧烷性能在氨流体条件下使用。因此全面地衡量，氨流体的性能也是不理想的。为了寻找一个更理想的极性较强的流动相，人们就采用在二氧化碳流体中增加第二组分，即改性剂的办法，来改变二氧化碳流体的极性。

使用改性剂是为了提高流动相的极性，改善它对极性样品的溶解性能，扩大二氧化碳流体对样品的适用范围。从这个意义上讲，改性剂都是极性组分。作为一种改性剂，除了要求它有较强的极性外，还要求与二氧化碳的互溶性好，在实验条件下性质稳定。改性剂及二氧化碳流体添加改性剂后与检测器匹配的一些情况见表4-13。最常用的改性剂是甲醇、脂肪醇等。实验表明脂肪醇类改性剂，长链比短链效果好，直链比支链作用强。改性剂的含量一般为千分之几到百分之十几，取决于实验要求以及流体和改性剂的互溶性。

表 4-13　二氧化碳流体添加改性剂后与检测器的匹配情况

改性剂	检测方法	改性剂	检测方法
甲醇①	UV、MS、FID	乙腈	UV、MS
脂肪醇	UV、MS	二氯甲烷	UV、MS
四氢呋喃	UV、MS	甲酸	UV、MS、FID
2-甲氧基乙醇	UV	二硫化碳	UV、MS、FID
脂肪酸	UV	水	UV、MS、FID
二甲基亚砜	UV		

① 流体中甲醇含量小于1%时有用FID的。

二氧化碳流体中添加极性改性剂后效果非常明显，它至少起到增加流体极性、提高对极性溶质的溶解度及对柱子去活等三方面的作用。超临界流体在不同的压力下密度不同，溶解度参数不同，因而溶剂化能力也不相同，能够溶解、分离不同的样品。利用超临界流体的这一特性，在色谱过程中将流动相的密度或压力按一定程序变化，以使不同的组分在不同密度下获得最佳的分离。因为流动相密度低了，难以使重组分流出，反之密度太高又会使轻组分流出太快，不能分离，最好是让不同组分在不同密度下流出，这就是程序升压或程序升密度的目的。由于流体的压力变化可改变流体的密度，但流体的密度和压力间一般并无线性关系，而密度和溶解度参数成正比，而且密度是保留值的独立变数，因此程序地改变流体的密度比程序地改变流体的压力更为合适。

三、超临界流体色谱柱与固定相

在超临界流体色谱中主要使用细内径毛细管填充柱，内径为100 μm或50 μm，填充固定

相膜厚为（3～10）μm。细内径毛细管柱主要是交联柱，固定相大多为甲基聚硅氧烷（如 OV-1，OV-101，DB-1，SPB-1，SB-Methyl-100），苯基聚硅氧烷（如 DB-5，SB-phenyl 与 OV-73），二苯聚硅氧烷（如 SB-biphenyl-25，SB-biphenyl-30），带乙烯基的聚硅氧烷（如 SB-33，SE-54），正辛基、正壬基硅氧烷（如 SB-octyl-50，SB-nonyl-50；PEG-20M），二酰胺类交联手性固定相等也常用。

四、检测器和检测方法

超临界流体色谱原则上既可利用高效液相色谱的检测器和检测方法，又可采用气相色谱的检测手段，这是超临界流体色谱和其他色谱方法相比的又一特点，在流出物检测手段的选择方面，特别是对高沸点、低挥发、可燃烧的样品的检测，它比高效液相色谱要灵活有利得多，如它可选择通用性的高灵敏的氢火焰离子化检测器(FID)，这种检测器不仅有定量校正方便、线性范围宽、灵敏度比高效液相色谱中常用的通用性折光检测器高得多（约高 10^3 倍以上）等优点，而且操作非常稳定。另外，超临界流体色谱还可选择高选择性的氮磷检测器(NPD)、火焰光度检测器(FPD)、硫化学发光检测器(SCD)、电子捕获检测器(ECD)及紫外检测器(UV)等，用于有选择的检测含氮、含磷、含硫、电负性以及紫外吸收敏感的样品。在实际工作中，氢火焰离子化检测器和紫外检测器是使用得最多的两种检测器，前者在常压下工作，后者则是在高压下工作。

恰当地选择不同的流体（包括改性后的流体）与不同的检测方法，使其达到一个最合适的匹配，可使检测方法发挥最佳的性能。表 4-14 给出了这种匹配关系。

表 4-14 超临界流体色谱用检测器的性能[16]

样品	UV		FID		ECD	
	检测量/pg	线形	检测量/pg	线形	检测量/pg	线形
萘	20	$\approx 10^3$	90	$\approx 10^4$	0.27	$\approx 10^4$
芘	200		60		0.30	
正十六烷			40			
正二十四烷			50			

参考文献

1 Flanagan R J, Storey G C A, Bhambra R K, et al. J Chromatogr, 1982, 247: 15
2 Flanagan R J, Jane I. J Chromatogr, 1985, 323: 173
3 Jane I, Mclennan A, Flanagan R J. J Chromatogr, 1985, 323: 191
4 Lingeman H, Van Munster HV, Beynen J H, et al. J Chromatogr, 1986, 352: 261
5 Golkiewicz W, Kuczynski J, Markowski W. J Chromatogr A, 1994, 686: 85
6 Snyder L R, Kirkland J J, Glajch J L. Practical HPLC Method Development. Second Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1997. 73, 275
7 卢佩章，戴朝政. 色谱理论基础. 北京：科学出版社，1989
8 Soczewinski E. Anal Chem, 1969, 41: 179
9 Salotto A W, Weiser E L, Caffey K P, et al. J Chromatogr, 1990, 498: 55
10 Lubke M, le Quere J-L, Barron D. J Chromatogr A, 1995, 690: 41
11 师治贤，王俊德. 生物大分子的液相色谱分离和制备. 第二版. 北京：科学出版社，1996
12 Valko K, Snyder L R, Glajch J L. J Chromatogr A, 1993, 656: 501
13 Schoenmakers P J, Billiet H A H, de Galan L. J Chromatogr, 1979, 185: 179

14 Tanaka N, Goodell H, Karger B L. J Chromatogr, 1978, 158, 233
15 Glajch J L, Snyder L R. Computer-Assisted Method Development For High-Performance Liquid Chromatography. Amsterdam: Elsevier, 1990
16 Snyder L R, Carr P W, Rutan S C. J Chromatogr A, 1993, 656, 537
17 West S D. J Chromatogr Sci, 1989, 27, 2
18 Antle P E, Goldberg A P, Snyder L R. J Chromatogr, 1985, 321, 1
19 Antle P E, Snyder L R. LC Mag, 1984, 2, 840
20 Bartha A, Billiet H A H, de Galan L. J Chromatogr, 1989, 464, 225
21 Bakalyar S R, McIlwrick R, Roggendorf E. J Chromatogr, 1977, 142, 354
22 Kirkland J J, Boyes B E, Destefano J J. Amer Lab, 1994, 26, 36
23 Glajch J L, Gluckman J C, Charikofsky J G, et al. J Chromatogr, 1985, 318, 23
24 Marzanti F C, Sisco W R. J Chromatogr, 1989, 465, 423
25 卢育民，肖晓文. 分析化学，1998，26，593
26 王俊德，商振华，郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京：中国石化出版社，1992. 93，140
27 Small H, Stevens T S, Bauman W C. Anal Chem, 1975, 47, 1801
28 牟世芬，刘开录. 离子色谱. 北京：科学出版社，1986
29 周良模，沈下峰. 分析化学，1991，19，1122
30 Smith Jr F C, Chang R C. The Practice of Ion Chromatography. New York: Wiley, 1983
31 邹汉法，张玉奎，卢佩章. 离子对高效液相色谱法. 郑州：河南科学技术出版社，1994，31
32 施良和. 凝胶色谱法. 北京：科学出版社，1980
33 Cooper A R, et al. Sep Sci Technol, 1979, 14, 551
34 Porath J. Pure Appl Chem, 1963, 6, 33
35 Gaylor V F, James H L. Anal Chem, 1978, 50(5), 29R
36 Zhang Yukui, Zou Hanfa, Lu Peichang, et al. Chinese Journal of Chemistry, 1991, 9, 441
37 Uversky V N. Biochem, 1993, 32, 13288
38 Lowe C R. An Introduction To Affinity Chromatography. Elsevier North Holland, Biomed Press, 1979, 1
39 孙毓庆，王延琮. 现代色谱法及其在医药中的应用. 北京：人民卫生出版社，1998，182
40 周良模等. 气相色谱新技术. 北京：科学出版社，1994，235
41 孙传经. 毛细管色谱法. 北京：化学工业出版社，256

第五章　定性定量方法

液相色谱法作为一种重要的分离手段，色谱柱可以将复杂的多组分混合物很好分离，这种能力是任何其他分析方法所无法比拟的。对经色谱柱分离后组分的定性及定量鉴定，是色谱工作者完成分析工作的一个重要环节。

液相色谱法包括多种模式，可以笼统地分为柱色谱和平面色谱（如薄层色谱）两类。本章介绍几种柱色谱中的常用定性定量方法，对于薄层色谱的定性定量问题，将在相应的部分讨论。

第一节　液相色谱定性方法

由于液相色谱过程中影响溶质迁移的因素较多，同一组分在不同色谱条件下的保留值可能相差很大，即使在相同的操作条件下，同一组分在不同色谱柱上的保留也可能有很大差别，就流动相组成影响而言，不同流动相组成有时甚至会出现溶质出峰次序颠倒的现象。因此液相色谱与气相色谱相比，定性的难度要更大些。对液相色谱中组分定性方法的研究一直是广大色谱工作者努力探求的一项重要工作。这里只介绍几种最常用的定性方法，对于一些复杂的定性研究将不涉及，读者可参阅有关专著[1-5]。

一、利用已知标准样品定性

利用标准样品对未知化合物定性是最常用的液相色谱定性方法，该方法的原理与气相色谱法中相同。每一种化合物在特定的色谱条件下（流动相组成、色谱柱、柱温等不变）的保留值具有特征性，如果在相同的色谱条件下被测化合物与标样的保留值一致，就可以初步认为被测化合物与标样相同。若流动相组成经多次改变后，被测化合物的保留值均与标准样的保留值相一致，就能够进一步证明被测化合物与标样为同一化合物。

二、利用检测器的选择性定性

不同种类液相色谱检测器均有其独特的性能，如示差折光检测器是一种通用性的检测器，但是灵敏度一般较低，而紫外、荧光及电化学检测器则为选择性检测器，灵敏度相对比较高。将一定量的未知化合物引入柱后并联或串联着的几种检测器（两种或两种以上），视其响应情况可以初步判别此未知化合物的类别。以烃类及其衍生物为例，在紫外光谱区［(190～400) nm］饱和烷烃的吸收很小，而以共轭双键结合的分子，如芳香烃等，有较强的吸收，分子中苯环的数量越多，吸收愈强。所以对于包含几种烃类组分的混合物样品，将色谱柱中的流出物同时引入并联的两种检测器，或按顺序依次引入串联的两种检测器，可以通过对比所得到的两张色谱图，由各组分在不同检测器上的相对峰高而判别它们所属化合物的类型。图 5-1 是两张由三组分样品经色谱柱分离后在并联的紫外和示差折光检测器上所得的色谱图。

比较图 5-1(a) 和(b)，可以对样品中的三个组分的类别作出初步判定。峰 1 很可能是带有芳环的化合物，峰 2 则不太可能带有芳环，而峰 3 以现有结果还不能确定为何类

化合物。总之，比较各组分在不同检测器上的色谱图相对响应值，可粗略地推测其结构或否定某种结构。

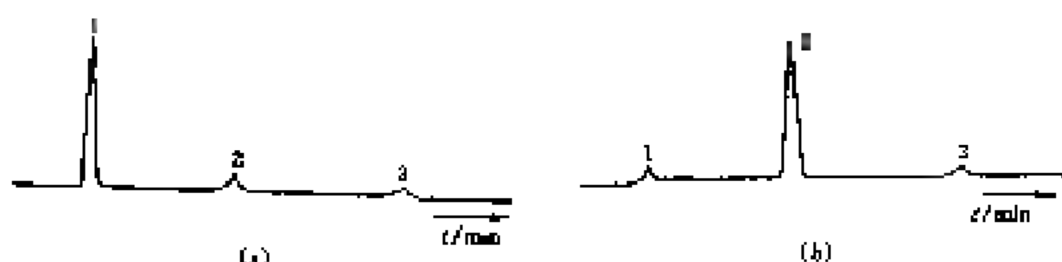


图 5-1 双检测器定性

(a) 紫外检测器；(b) 示差折光检测器

固定相：Nucleosil-CN；

流动相：10 mmol·L⁻¹乙酸水溶液加 0.18 mmol·L⁻¹ N,N-Dimethyl-n-propylamine；

溶质：1—苯胺，2—苯酚胺，3—苯甲酸

紫外检测波长：292 nm

三、利用紫外检测器全波长扫描功能定性

紫外检测器是液相色谱中使用最广泛的一种检测器。全波长扫描紫外检测器可以根据被测化合物的紫外光谱图提供一些有价值的定性信息。传统的方法是：在色谱图上某组分的色谱峰最大值出现时，即最高浓度谱带进入检测器时，通过停泵等手段，使组分在检测池中滞留，然后对检测器中的组分进行全波长（190～800 nm）扫描，得到该组分的紫外可见光谱图；再取可能的标准样品按同样方法处理。对比两者光谱图即能鉴别该组分是否与标准品相同。对于某些有特征紫外光谱图的化合物，也可以通过对照标准谱图的方法来识别未知化合物。

带有双通道的多波长紫外检测器中，每个通道可选择多种不同波长（一般由 210～230 nm），组分进入检测器后，选择两束特定波长的光同时照射到该组分分子上，在双笔记录仪上即能同时记录下该组分在这两个波长下的吸收率，得到对应的两张色谱图，如图 5-2 所示。



图 5-2 采用不同紫外波长得到的色谱图
条件同图 5-1

在一定的色谱条件下，每种化合物在不同波长下的吸收率比值不变，因此当组分进入检测器后，可得到在一组不同波长下的吸收率比值。例如 A_{220nm}/A_{230nm}，A_{240nm}/A_{250nm}，A_{310nm}/A_{270nm}等，其中 A_{220nm}表示该化合物在 220 nm 波长下的吸收率，即色谱图的峰面积。取某些纯品标样在相同的色谱条件下进行实验，作出不同波长下特定的吸收率比值，并将样品组分与标准化合物的光谱图相比较，可对组分结构作出肯定或否定的定性结论。此外，通过比较色谱峰各点的吸收率比值，也可以鉴别色谱峰内是否夹杂有另外的化合物，即检查色谱峰的纯度。

二极管阵列紫外检测器对于液相色谱定性结果相对于上面的两种方法有更大的优势。这

种检测器一般可以在很短的时间内完成一次从（200～800）nm波长范围的全扫描，并将扫描结果存入计算机。当样品从色谱柱流出进入检测器时，在每一个采样点都可以得到一张全波长范围扫描的紫外光谱图，结合时间坐标，即可以获得包括有色谱信号、时间、波长的三维色光谱图。

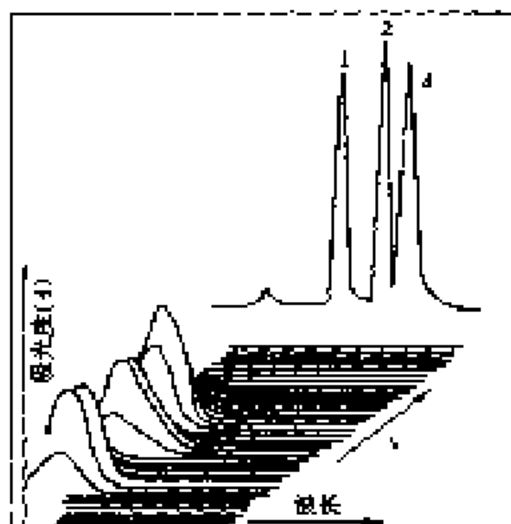


图5-3 由紫外光电二极管阵列检测器得到的典型色谱光谱图

1—可的松；2—氢化可的松；3—皮质甾酮

图5-3是一组化合物的色谱光谱图。通过对此色谱峰上各点的光谱图可以判别峰的纯度，而与标准品的紫外光谱图或标准谱图相比较，也可以进一步确认该未知物的结构。

四、利用改变流动相组成时被测组分的保留值变化规律定性

溶质在液相色谱法中的保留值随流动相组成的变化及固定相的改变而改变，不同溶质的变化规律也不相同。为了使样品中的多种溶质组分得到很好的分离，可以通过改变流动相组成等参数的手段实现。类似地，也可以根据某一化合物在特定条件下的保留值变化规律反过来推测得到其结构特征的信息。由于液相色谱系统比较复杂，溶质保留值变化规律一般受二个或三个以上因素的协同制约，因此给这种提供定性信息方法的实践带来很大困难。近年来，很多色谱工作者对于通过流动相组成与化合物保留值之间的关系来定性的工作作了很多有益的尝试，得到了一些在局部范围内有参考价值的关系式，但离真正在实际工作中应用还有一段距离。这里只对其中较为成熟的两种方法加以简单介绍。

（一）反相色谱中的 a、c 指数定性

理论研究表明，在以硅胶为固定相的反相色谱中，溶质保留值与流动相组成关系式中的系数能够反映溶质的结构特征，因此可用于溶质的辅助定性。卢佩章等[1]给出了460种化合物在 C_{18} 柱上不同条件下的 a、c 指数，并提出了不同柱系统、不同冲洗剂浓度组成时 a、c 指数之间的换算方法。在相同的色谱条件下，如果样品中某一组分的 a、c 指数与一已知标样相同，即认定两者为同一种化合物。但这种方法的应用目前还存在很大的局限性。

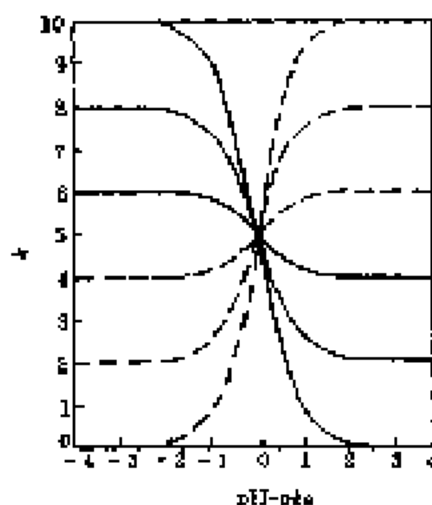


图5-4 一元有机酸（实线）和碱（虚线）的容量因子与流动相 pH-pKa 关系曲线

（二）有机酸碱的 pH-pK_a 规律定性

在反相色谱系统中，改变流动相pH值的条件下，不同类的可解离有机酸类、有机碱类等溶质的保留值变化有其独特的规律，如图5-4所示。

对于某一种有机酸类溶质，其解离常数pK_a为常数，流动相中氢离子浓度变化后，对有机酸的解离起到调解作用，因此溶质的容量因子随之变化。同理，对于有机碱类溶质，容量因子随流动相pH值的变化与有机酸正相反。因此，对于一个未知化合物而言，测定其容量因子随流动相pH值的变化规律，即能判断其为有机酸类或有机碱类，以及酸碱性的强弱。

五、碳数规律定性

容量因子是溶质的一种结构型物性参数，即溶质容量因子的对数与同系物碳数之间存在良好的线性关系：

$$\ln k' = a + bn \tag{5-1}$$

式中，a、b 为常数，n 为同系物的碳数。对于包含有同系物溶质的样品，在已知部分同系物在色谱图中位置的情况下，可以根据碳数规律对同系物的未知部分进行定性。

六、联合定性

收集从色谱柱中流出的各样品组分，再用其他化学或物理方法定性的方法在液相色谱中经常采用。液相色谱仪常采用光学检测器，这样被测化合物经过检测器后不会遭受到破坏，可以很方便地被收集并进一步通过红外光谱、质谱、核磁共振等其他方法作定性鉴定。液相色谱与其他分析方法的联用技术也属于此类。

第二节　液相色谱定量方法

样品中的混合组分经色谱柱分离后，依次进入检测器，因此可以精确测定每一组分的含量。相对而言，色谱法对于样品的定量较其定性具有更大的优势。

一定量样品被注入色谱柱后由流动相携带着在固定相与流动相之间进行多次分配完成分离，最后离开色谱柱，并进入检测器而产生响应。由于组分在柱内运行过程中受传质、扩散等因素的影响，离开色谱柱时，浓度随时间变化的规律以某种形式的分布曲线在记录仪上被记录下来，进入检测器的物质量等于它在流动相中浓度对时间的积分值。这样溶质的量 m_i 与色谱峰面积之间的关系可以写成

$$m_i = \frac{u_2}{u_1} \cdot \frac{F_c}{S_i} \cdot A_i \tag{5-2}$$

由于在检测器响应值的线性范围以内，纸速 u_1(cm/min)、记录器灵敏度 u_2(mV・cm^{-1})、流动相流速 F_c(ml・min^{-1})和记录器灵敏度 S_i 皆为常数，因此进入检测器的溶质量与色谱峰面积 A_i 之间存在正比例关系。这是色谱法利用被测组分色谱峰面积进行定量的基础。

一、峰面积的测定

色谱法中是利用被测组分的色谱峰面积进行定量，因此准确测量色谱峰面积是色谱定量工作中的必要前题。随着色谱技术的发展，峰面积的测量方法也在不断得到改进。

1. 峰高乘峰半宽法

对于对称峰形，可按下列公式计算峰面积

$$A = 1.065 w_{1/2} h \tag{5-3}$$

式中，A 为色谱峰面积；$w_{1/2}$为半高峰宽；h 为峰高；系数 1.065 为色谱峰与三角形面积之间的校正系数。

按公式（5-3）计算峰面积时，要特别注意峰宽测量的准确性。对于峰宽小于 2 mm 的色谱峰，经常采用放慢记录纸纸速的方法加大峰宽以减小误差。当峰宽不随进样量变化时，也可以用峰高代替峰面积作定量计算。

直接按公式（5-3）计算不对称峰形的峰面积误差较大，可采用面积仪测出峰面积，或将

峰面积印在已知面积与质量关系的纸上，剪下峰形，称其质量而计算得到相应的峰面积。

2. 积分仪法

积分仪可以将检测器给出的微电流或电压信号进行积分，并将峰面积打印出来。

3. 微处理机法

80年代后生产的液相色谱仪大多带有微处理机，微处理机不仅能将检测器给出的微电流或微电压信号经处理后打印出峰面积，而且能根据所给指令按外标法或内标法，根据标样和各组分的峰面积，直接打印出各组分的含量。

4. 色谱工作站方法

色谱工作站不仅具有微处理机的功能，而且具有对基线波动进行修正、判别重叠峰等功能，可以给出更精确的峰面积数据。

二、定量计算

(一) 外标法

外标法是以被测组分的纯品（或已知其含量的标样）作为标准品进行对比定量的一种方法。取一定量标准品（即一定量已知浓度的溶液）在给定的色谱条件下注入色谱柱，由检测器测定其响应值（峰面积或峰高），在一定浓度范围内，标样量与响应值之间一般有比较好的正比例关系

$$A_0=f_ic_0V_0 \qquad (5\text{-}4)$$

式中，A_0为峰面积；V_0为注入的标样溶液体积；c_0为标样溶液浓度；系数f_i可由实验测得。

在完全相同的色谱条件下，如果未知样品的进样量为V_1，实验测得的与标样相同组分的峰面积为A_1，根据式（5-4），由已知的A_0、V_0和c_0等即能求出样品中该种组分的相对浓度c_1

$$c_1=\frac{A_1c_0V_0}{A_0V_1}=\frac{A_1}{f_i} \qquad (5\text{-}5)$$

如果检测器的灵敏度不很稳定，测定样品期间需要经常注入标样以得到不同时间的f_i值。

外标法由于方法操作和计算都比较简单，因此在液相色谱样品定量中经常被采用。但是这种方法对分析样品的整个操作过程中操作条件的稳定性要求较高，如检测器灵敏度、流动相流速组成等不能有较大变化，为了使溶液浓度保持恒定，也要求标样溶液及被测溶液被较好地密封，并且每次进样体积要有好的重复性，否则将会影响到定量结果的准确性。

(二) 内标法

外标法的几点要求有时难以实现，为了得到准确的定量结果，必须采用另外的有效定量方法。在同一次实验操作中，被测物的质量响应值与内标物的质量响应值的比值不随进样体积或操作期间所配制的溶液浓度的变化而变化，根据这一原理能够通过内标法得到未知样品较准确的定量结果。

内标法定量首先要选择与被测物保留值相近的内标物，当样品中有几个被测组分时，则要求内标物的保留值介于几种被测组分之间，应避免与其他组分峰重叠。内标法定量的具体操作为：第一步，先用分析天平准确称取被测组分a的标样W_a，再称取内标物W_s，并加入一定量的溶剂将其溶解，如此得到的溶液作为混合标样使用。取一定体积混合标样注入色谱柱，得到的被测组分及内标物色谱峰的峰面积分别为A_a和A_s，那么相对质量响应值

$$S_a=\frac{A_a/W_a}{A_s/W_s} \qquad (5\text{-}6)$$

注意：这里 W_a、W_s 分别是混合标样溶液中所含有的总的被测组分 a 及内标物的绝对质量。

第二步，称取含 a 组分的被测物 W'，另准确称取内标物 W_s'，将两者混合并用一定量溶剂配制成混合溶液。取一定体积混合样品注入色谱柱，可得被测组分及内标物的色谱峰面积分别为 A_a' 和 A_s'，然后进一步算出被测样品中目标组分响应值

$$S_a=\frac{A_a'/W_a'}{A_s'/W_s'} \tag{5-7}$$

即

$$W_a'=\frac{A_a'W_s'}{A_s'f_a} \tag{5-8}$$

组分 a 在被测样品中的含量（质量分数 w）

$$w=\frac{W_a'}{W'}\times100\% \tag{5-9}$$

如果被测样品中除 a 组分外，还有 b、c、d 等其他组分，均可按此方法，先分别求得每种组分的响应值，然后再进一步求得各组分在样品中的含量。

内标法定量操作过程中将样品和内标物混在一起注入色谱柱，进样体积不重复对峰面积所造成的影响，在计算过程中均被抵消，因此只要混合溶液中被测组分与内标物量的比值恒定，溶液体积的变化不会影响定量结果。由此可见，内标法较外标法准确度高。但是操作和计算均较复杂。

外标法和内标法是液相色谱中常用的两种定量方法。至于其他方法，如气相色谱中，用氢火焰离子化检测器时常采用的归一化法等，在液相色谱中一般不被采用。这是因为在液相色谱中所使用的检测器均为紫外、荧光检测器等选择性检测器，它们对不同结构化合物的响应值差别较大，有时甚至能相差几个数量级，如此采用归一化的方法定量显然是不可行的。

参 考 文 献

1 卢佩章，张玉奎，梁鑫淼. 高效液相色谱法及其专家系统. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1992：489~550
2 卢佩章，戴朝政，张祥民. 色谱理论基础. 第二版. 北京：科学出版社，1997：281~319
3 高鸿. 分析化学前沿. 北京：科学出版社，1991：145~152
4 邹汉法，张玉奎，卢佩章. 液相色谱法. 北京：科学出版社，1998：326~351
5 邹汉法，张玉奎，卢佩章. 离子对高效液相色谱法. 郑州：河南科学技术出版社，1994：176~210
6 李浩春. 分析化学手册. 第二版. 第五分册. 气相色谱分析. 北京：化学工业出版社，1999：226~282
7 于世林，商振华，郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京：中国石化出版社，1994：224~238

第六章 柱液相色谱仪器系统

高效液相色谱仪是实现高效液相色谱分析的仪器设备，其基本单元组成如图6-1所示，高效液相色谱系统至少应包括输液系统、进样器、分离柱、检测器和数据处理系统等几部分。

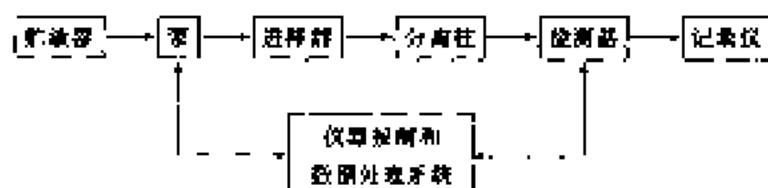


图6-1 高效液相色谱仪的组成

第一节 输液系统

输液系统包括贮液及脱气装置、高压输液泵和梯度洗脱装置。

一、贮液及脱气装置

贮液装置用于存贮足够量的、符合HPLC要求的流动相。贮液装置应备下述条件：

① 足够的容积；

② 与流动相不发生化学反应；

③ 便于贮存的流动相脱气；

④ 与其他部件联接方便。

溶剂贮存器一般是以不锈钢、玻璃或聚四氟乙烯衬里的容器，容积为(0.5～2)L。流动相放入贮液装置前应经过严格的过滤，置于贮液装置中的吸液导管需装孔径为10μm左右的过滤器。这种过滤器一般由不锈钢烧结材料制作。流动相进入高压泵前必须脱气，否则流动相通过柱子时其中的气泡受到压力而压缩，流出柱子到检测器时，会因压力降至常压而将气泡释放出来，造成基线不稳，检测器噪声增大，使仪器不能正常工作，在梯度淋洗时这种情况尤为突出。常用的脱气方法有如下几种。

(1) 低压脱气法　电磁搅拌、水泵抽真空，可同时加温或向溶剂吹氮。但由于抽真空或加热过程中可能引起流动相中低沸点溶剂的挥发而影响其组成，所以此法不适于二元以上溶剂组成的流动相脱气。

(2) 吹气脱气法　向溶剂中吹入氦气等小分子惰性气体，以使溶解在流动相中的空气等脱出。

(3) 超声波脱气法　将溶剂瓶置于超声波清洗槽中，以水为介质超声脱气，一般500ml溶液均需超声(20～30)min方可达到脱气目的。此法方便，不影响溶剂组成，适用于各种溶剂。使用此法时应注意避免溶剂瓶与超声波清洗槽底或壁接触，以免瓶子破裂。

二、高压输液泵

高效液相色谱柱填料颗粒较小，通过柱子的流动相受到的流动阻力较大，因此需用高压泵，以便向柱子提供流量稳定、重现性好的流动相。对高压输液泵的要求包括以下几点。

① 流量稳定，输出的流动相基本无脉冲，流量精度和重复性优于0.3%。

② 流量范围宽，分析型一般在(0.1～10) ml·min⁻¹范围内连续可调。为适应微柱技术发展，现已有最小体积流速为0.01 ml·min⁻¹的高压输液泵。制备型仪器所用高压输液泵最大流速达100 ml·min⁻¹。

③ 输出压力高，密封性能好，最高输出压力应达(40～50) MPa。

④ 泵死体积小，有利于流动相的更换。岛津公司的LC-10AD双柱塞往复式并联泵的泵腔体积仅为10 μl，单向阀的体积仅为2 μl。

⑤ 耐腐蚀性好。在分析生物样品时流动相常用腐蚀性较大的缓冲液，这对泵材料的耐腐蚀性要求很高。使用腐蚀性流动相后应立即用其他溶剂冲洗泵腔，避免腐蚀性的流动相长期留存于泵内。最近一些新型柱塞泵的柱塞后附有清洗装置，可自动冲洗。

⑥ 具有梯度洗脱功能。

高压泵按输液性能可分为恒压泵和恒流泵两类，按机械结构又可分为液压隔膜泵、气动放大泵、螺旋注射泵和往复柱塞泵4种，前两种为恒压泵，后两种为恒流泵。恒压泵可以输出压力稳定不变的流动相。在一般的系统中，由于系统阻力不变，恒压亦可达到恒流的效果。但当系统阻力变化时，输入压力虽然不变，流量却可随阻力而变化。恒流泵则无论柱系统阻力如何变化都可保证其流量基本不变。

在色谱实际操作中，柱系统的阻力由于某些原因可能有所变化(例如填料装填不均匀；由高压装柱造成的柱系统阻力的改变等)，因此恒流泵比恒压泵更优越。然而在泵和柱系统所允许的最大压力下操作时，恒压泵较方便且安全。因此有些恒流泵亦带有恒压输液的功能，以满足多种需要。表6-1列出了4种高压输液泵的特点。图6-2～图6-5分别为4种泵的结构示意图。

表6-1 四种高压输液泵的特点[1]

泵类型	优点	缺点
液压隔膜泵	制备工艺要求低，高压密封易于解决	排吸液切换时压力波动较大
气动放大泵	制备容易，输液时压力稳定无脉动	流量调节不方便，很少用于梯度淋洗，在柱路阻力变化时，流量亦随之改变，目前多用于装柱
螺旋注射泵(或电动螺旋泵)	这种泵流量稳定，属恒流泵	间断式供液，更换流动相时，清洗不方便，采用双缸结构解决了间歇供液的问题，但清洗困难仍无法克服，目前多用于超临界色谱
往复柱塞泵	液缸容积恒定，柱塞往复一次排出的流动相恒定，流量由改变柱塞往复频率来调节	往复式柱塞泵是恒流泵，但它输出的流动相有明显的脉动，这由其结构所决定

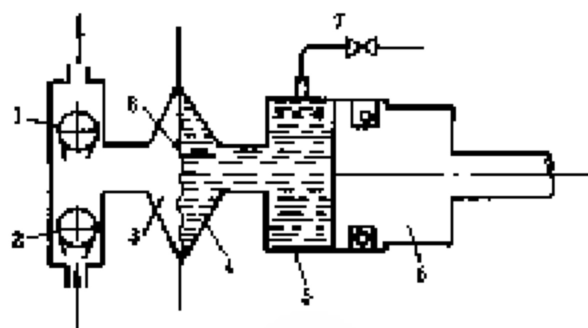


图6-2 液压隔膜泵示意图

1,2—进出口单向阀；3—赤铜液缸；4—压力传递介质缸；5—压力传递介质；6—柱塞；7—压力传递介质输入阀；8—压力传递隔膜

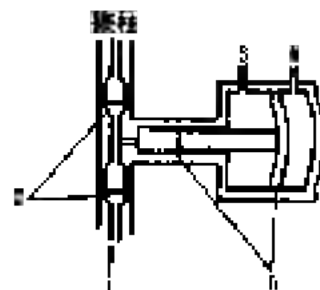


图6-3 气动放大泵示意图

1—溶剂入口；2—单向阀；3—回复时空气入口；4—驱动时空气入口；5—密封

往复柱塞泵是目前 HPLC 采用最多的一种高压输液泵。工作时电动机带动凸轮转动，凸轮驱动活塞在液缸内往复运动。柱塞自液缸内抽液时，出口单向阀关闭，流动相自入口单向阀吸入；柱塞推液时入口单向阀关闭，流动相自出口单向阀压出到色谱柱。因为在吸入冲程时泵没有输出，流动相流量的脉动将使仪器无法正常工作，所以多采用双头泵和加脉动阻尼器以减少脉动。往复泵有单柱塞、双柱塞［又分为并联式、补偿式（串联式）、压吸入式等］和三柱塞泵等不同类型。一般来说，柱塞增加，脉动小，流量更平稳，但构造也相应复杂，故障几率明显增加。

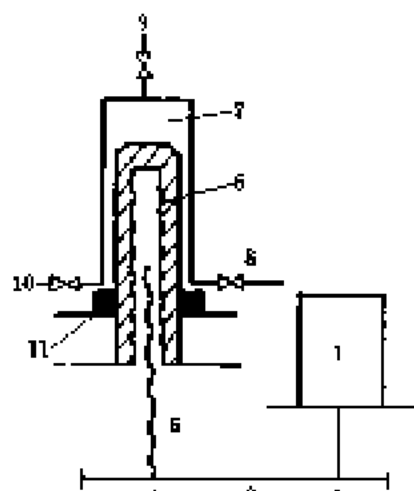


图 6-4　螺旋注射泵示意图

1—电机；2,3,4—传动齿轮；5—丝杠；6—柱塞；7—液缸；8,9,10—高压针形阀；11—密封环

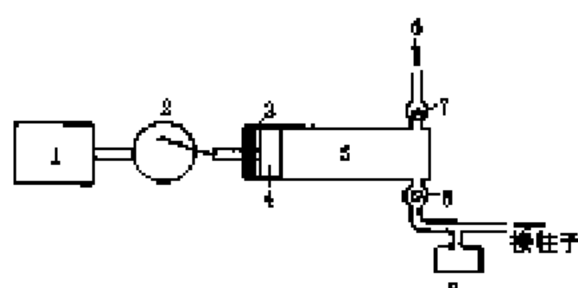


图 6-5　往复柱塞泵（单柱塞）示意图

1—电动机；2—凸轮；3—密封；4—活塞；5—泵室；6—溶剂入口；7—入口单向阀；8—出口单向阀；9—脉冲阻尼器

（1）单柱塞泵　结构见图 6-5，泵的压力和流量波动大，采取一些必要的措施，如增加阻尼器、对凸轮形状作特别设计以及利用先进的电子技术，也可获得满意的结果。采取在排液冲程结束瞬间突然加速吸液，然后立即高速排液，使压力很快恢复到原有状态后，再匀速排液，也可以获得较满意的效果。这种情况下的排液特征如图 6-6 所示。

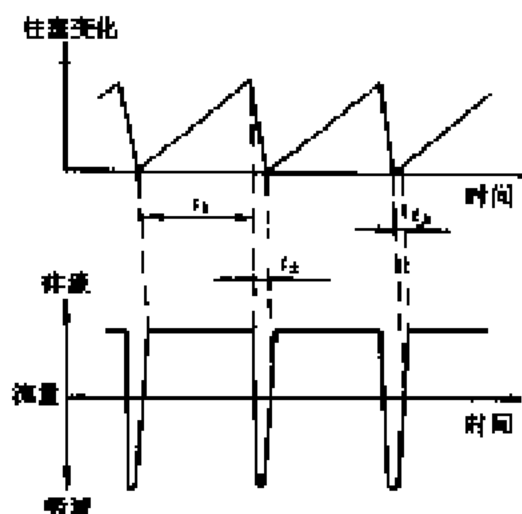


图 6-6　单柱塞泵柱塞定位与流量特征曲线

（2）串联式双柱塞泵　结构如图 6-7 所示，泵 2 的入口接在泵 1 的出口，由泵 2 的出口输出流动相。泵 1 带单向阀，用于吸流动相，并向泵 2 排出流动相。泵 2 不带单向阀，用作缓冲流动相的输出。泵 1 和泵 2 的体积比为 2∶1，泵 1 输出流动相时，泵 2 的泵腔吸入流动相的一半，另一半通过泵 2 输出到色谱柱，泵 1 吸入流动相时，泵 2 进一步将泵腔中贮存的一半流动相输出到色谱柱，以减少输出时的信号脉动。

（3）并联式双柱塞泵　结构如图 6-8 所示。采用两个相位相差180°的凸轮分别推动两个柱塞，柱塞 A 吸入流动相时，柱塞 B 输出流动相到色谱柱；反之，柱塞 A 输出流动相到色谱柱时，柱塞 B 吸入流动相，这样可减少输出脉动。输液特性见图 6-9。

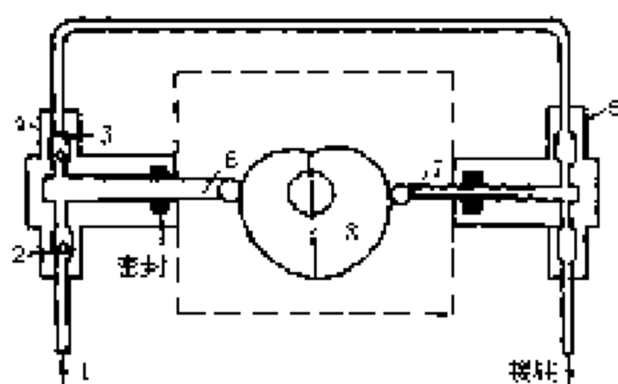


图 6-7　串联式双柱塞泵结构图
1—溶剂入口；2，3—单向阀；4—泵 1；5—泵 2；
6—活塞 1；7—活塞 2；8—凸轮

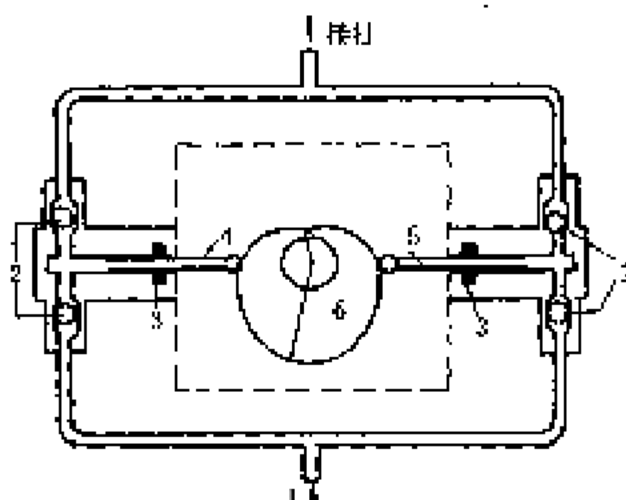


图 6-8　并联式双柱塞泵结构图
1—溶剂入口；2—单向阀；3—密封；
4—活塞 A；5—活塞 B；6—凸轮；

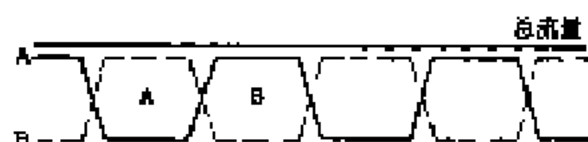


图 6-9　并联式双柱塞泵排液特征

（4）双柱塞补偿泵　结构如图 6-10 所示。主、副泵腔容积比为 2∶1。当主泵头排液时，50%的流动相溶剂被副泵头吸入，另 50%输入柱系统；当主泵头吸液时，副泵头将原先吸入的 50%液体供给柱系统，其排液特征如图 6-11 所示。这种结构又叫往复串联式泵，它比并联式泵的结构少用两组单向阀。由于单向阀的玷污往往是泵恒流输液性能下降的主要原因，因此一台泵所用的单向阀越少，发生故障的机会也越少，串联式补偿结构的高压泵流量精度高，压力波动小，更换溶剂方便，易于清洗，很适合于梯度洗脱。全自动高效液相色谱仪即采用这种结构的泵。

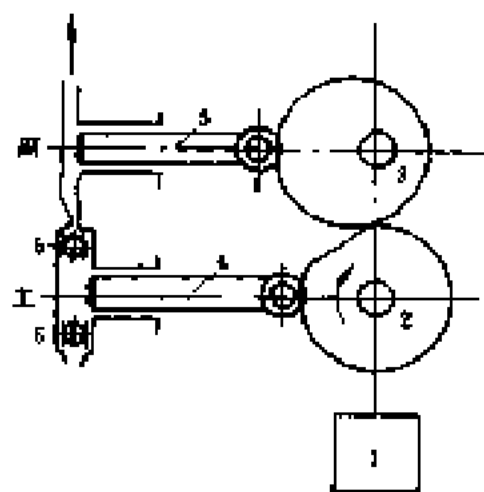


图 6-10　双柱塞补偿式恒流泵结构图
1—电机；2—主凸轮；3—副凸轮；
4—主活塞；5—副活塞；
6—排、吸液单向阀

（5）双柱塞正压吸入式恒流泵（双柱塞歧步泵）　结构如图 6-12 所示这是泵与上述各种泵的区别在于其吸液过程在正压下进行，从而避免了负压吸液吸入空气的可能性。为减少泵的死体积，泵腔一般很小，多在（10～100）μl，柱塞往复频率高，因此对密封环耐磨性、单向阀的刚性和精度要求很高。密封环常用聚四氟乙烯-石墨制成，单向阀球、座和柱塞则用人造红宝石材料制作。在维修往复式柱塞泵时应特别小心，严防固体颗粒进入泵体，以免划伤密封环、阀球、座和柱塞。使用过程中要避免悬浮杂质进入泵体。在使用含盐的缓冲液时要避免盐颗粒在泵中析出，否则将大大缩短泵寿命。

三、梯度洗脱装置

梯度洗脱是采用两种（或多种）不同极性的溶剂，在分离过程中按一定程序连续改变流

动相的浓度配比和极性的一种洗脱模式。色谱分离要求在尽量短的时间内获得足够的分辨率，此外在分离保留值范围较宽的复杂混合物时，随保留值增大，谱带变宽，使峰的检测发生困难，甚至会发生保留值太大，样品洗脱不下来的情况，采用梯度洗脱可以解决这类问题。梯度洗脱可以通过流动相极性的变化来调整被分离样品的选择因子和保留时间，以使柱系统具有最好的选择性和最大的峰容量。梯度洗脱技术能够提高分离度，缩短分析时间，降低最小检测量并提高分析精度，对于复杂混合物，特别是保留性能相差较大的混合物的分离梯度洗脱是一种极为重要的手段。梯度洗脱装置可以分为高压梯度和低压梯度两种模式。

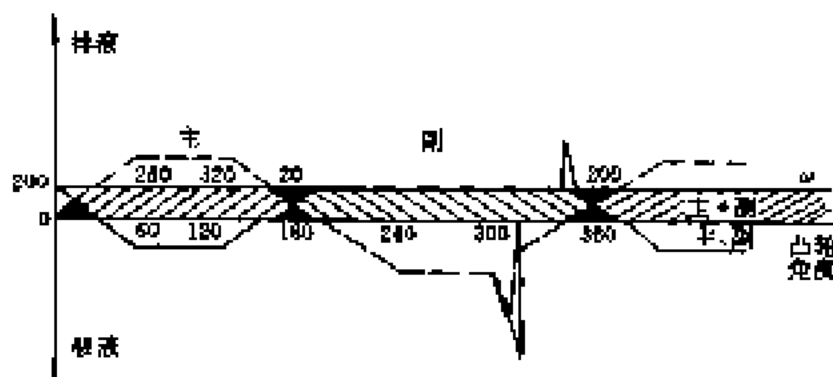


图 6-11　并联式双柱塞泵排液特征

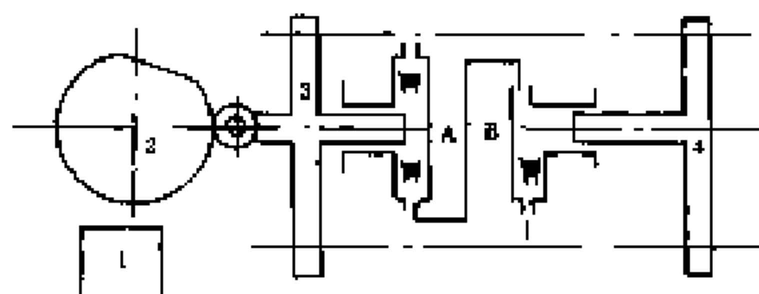


图 6-12　双柱塞正压吸入式泵结构示意图

1—电机；2—凸轮；3—高压柱塞；4—低压柱塞

（一）高压梯度装置

高压梯度又称为内梯度，是采用多个高压泵将不同的流动相增压后送入梯度混合室混合，然后再送入色谱柱的方法，原理如图 6-13 所示。一般流动相中有几种变化组分(即几元梯度)即需要几台高压输液泵。如二元梯度洗脱，需两台高压输液泵；而三元梯度洗脱，需三台高压输液泵。每一台高压输液泵输出量可分别用程序控制器控制，按设定的程序将不同量的各组分输送到混合室混合，产生任意形式的梯度洗脱曲线。混合器的设计极为重要，各组分在高压下混合，混合器体积应尽量小、混合效率高，以保证得到重复性好、滞后时间短的梯度洗脱曲线，此外混合器也应便于清洗，滞后时间由泵、混合器和输液管道的死体积所决定。

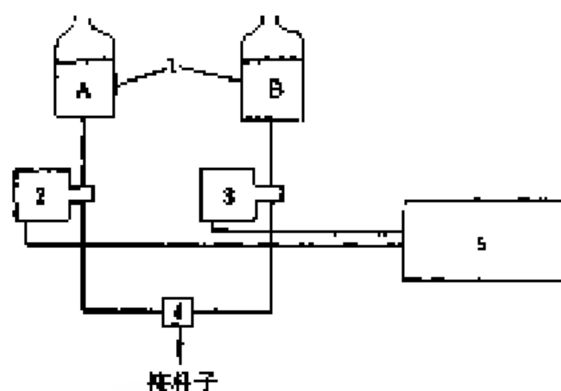


图 6-13　二元高压梯度洗脱装置示意图

1—溶剂贮罐；2—高压泵 1；3—高压泵 2；4—小体积混合室；5—梯度编程器和控制器

高压梯度可获得任意形式的梯度洗脱曲线，精度高，易于实现控制的自动化。不同组分的流动相在高压下混合，不易产生气泡，对流动相的脱气要求较低。但高压梯度需使用多台高压输液泵，成本较高。

（二）低压梯度装置

低压梯度又称为外梯度，是在常压下将流动相的不同组分混合后再用高压输液泵送入色谱柱的方法，原理如图 6-14 所示。利用一个可变程序控制器操作电磁比例阀控制不同溶剂的流量变化，溶剂按不同比例输送到混合室混合，然后用一台高压输液泵将混合好的流动相输送到色谱柱。

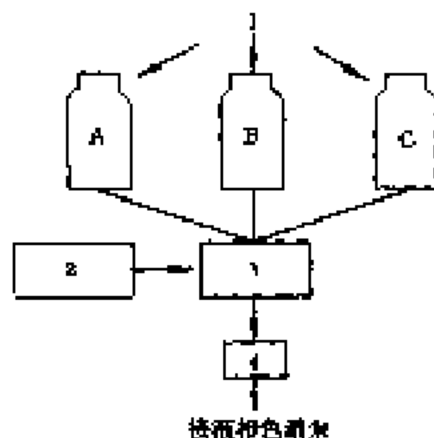


图 6-14　多元低压梯度洗脱装置示意图

1—溶剂贮瓶；2—程序器；3—电磁比例阀；4—混合室

低压梯度装置同样要求泵和混合室的死体积尽量小，使梯度变化更接近于连续变化(低压梯度变化呈台阶式，当每一个台阶很小时，可接近连续变化)。低压梯度装置一般比高压梯度装置适用性强，采用一台高压输液泵，结合电磁比例阀就可以完成多元梯度洗脱操作，成本大大降低。此外在流动相被加压输入到色谱柱前，不同流动相组分混合产生的体积变化已完成，可避免高压梯度装置中流动相体积变化引起的流量变化。采用低压梯度装置时，各流动相组分混合前、后需进行脱气，否则混合过程中产生的气泡将使仪器无法正常工作，采用串联式柱塞泵作低压梯度时，对流动相的脱气要求较低，甚至可不脱气使用。表 6-2 比较了各种梯度洗脱系统的特征。

表 6-2　不同梯度洗脱系统的比较

特　　性	二元高压梯度	二元低压梯度	多元低压梯度
可能洗脱范围	较广	较广	广
梯度的重现性	较好	好	较好
成　本	较高	低	低
改变流动相	较容易	容易	较容易
机械性能	较简单、较可靠	简单、可靠	较简单、较可靠
自动化难易程度	容易	容易	较容易
对溶解气体的敏感性	较敏感	敏感	敏感
梯度准确性	较准确	准确	较准确
不同溶剂混合能力	较强	较强	强
对操作者依赖性	较大	较大	较大
方便性	方便	方便	较方便

第二节　进样系统

进样系统是将待分析样品引入色谱柱的装置。液相色谱进样装置需满足重复性好、死体积小、保证柱中心进样、进样时对色谱柱系统流量波动要小、便于实现自动化等多项要求。进样系统包括取样、进样两种功能，实现这两个功能又有手动和自动两种方式。

一、注射器进样装置

注射器进样装置适用于较低的进柱压力，当进柱压力低于 10 MPa 时可用微量注射器进样。注射器进样装置如图 6-15 所示。进样口隔膜材料必须耐溶剂的化学侵蚀，有一定的机械强度和耐穿刺性。目前常用硅橡胶作为隔膜材料，但其不适用于烷烃，氟橡胶可用于烷烃，但

不能用于丙酮和甲醇。采用硅橡胶表面粘覆聚四氟乙烯或亚硝基氟橡胶、羧基氟橡胶作为隔膜材料能适用于各种溶剂。注射器进样，进样量可随意调整，但不适合制备色谱及定量分析。

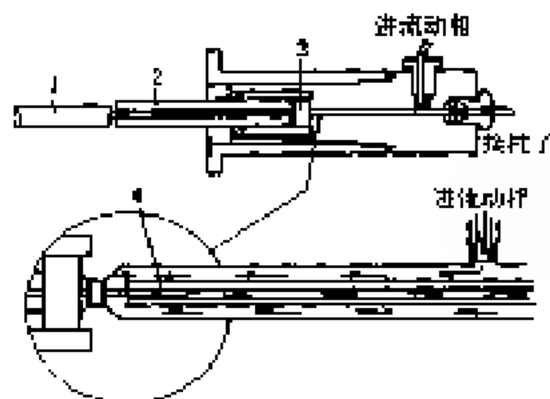


图 6-15　注射器进样装置
1—注射器；2—隔膜固定器；3—隔膜；4—注射针头

柱头压力大于 10 MPa 时，需采用停流注射法进样以避免反压，即先使流动相停止流动（打开泄流阀或关泵），压力降到足够低时再用注射器穿刺进样。这种进样方法不会影响柱效，但无法取得精确的保留时间，峰形重复性也较差。进样量的重复性与进样技术有关。为防止压力泄漏，可采用双层隔膜和双隔板进样口，如图 6-16。

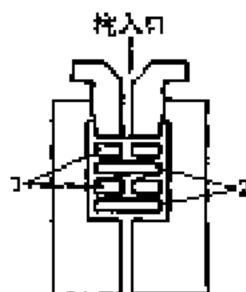


图 6-16　双隔膜高压进样口
1—不锈钢隔板；2—橡胶隔膜

注射器进样装置的注射口有柱上注射口和冲扫注射口两种主要形式，这两种形式都可进行停流注射进样和流动注射进样。柱上注射口可以使样品直接注射到柱填充物上，采用冲扫注射口，样品被流动相冲扫到色谱柱上。为使样品进柱前扩散减少到最小程度，必须尽量减少死体积，因此冲扫注射口进样量不宜过大。注射器进样需防止针刺次数太多而使隔膜材料掉下的碎屑阻塞色谱柱。

二、阀进样装置

阀进样装置适用于高压进样，结构如图 6-17 所示。阀进样装置由高压六通阀和固定体积的定量管组成。阀体用不锈钢制成，内壁精密加工，旋转密封部分由既耐磨又具有良好的密封性能的铝合金陶瓷材料或聚四氟乙烯制作。进样量大小可通过选择不同体积（1～103 μl）定量管来改变。

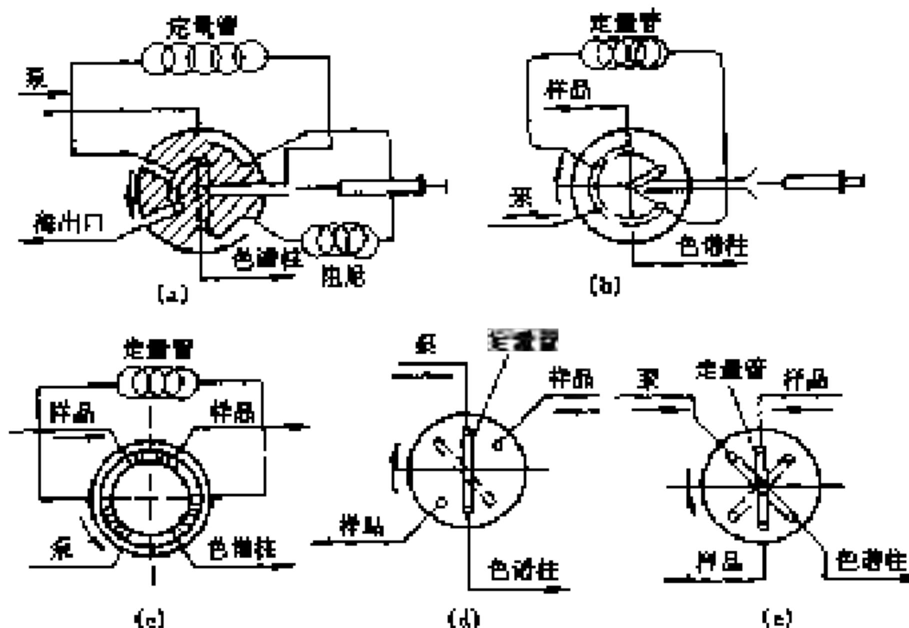


图 6-17　各种高压阀结构示意图
(a)、(b) 注射器和定量管两用阀；(c) 普通进样阀；(d)、(e) 微量进样阀

三、自动进样器

自动进样器在程序控制器或微机控制下可自动完成取样、进样、清洗等一系列操作，操作者只需将样品按顺序装入贮样装置即可。

图 6-18～图 6-20 为几种典型自动进样装置结构示意图，表 6-3 介绍了不同自动进样器的工作步骤，表 6-4 也对不同类型进样装置的特征作了简单总结。

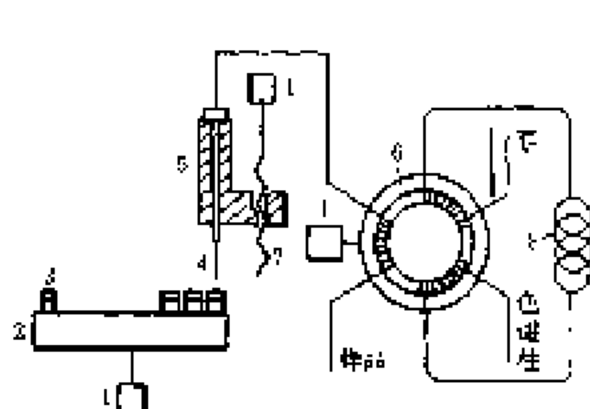


图 6-18　圆盘式自动进样装置结构示意图

1—电机；2—贮样圆盘；3—样品瓶；4—取样针；5—滑块；6—进样阀；7—丝杆；8—定体积量管

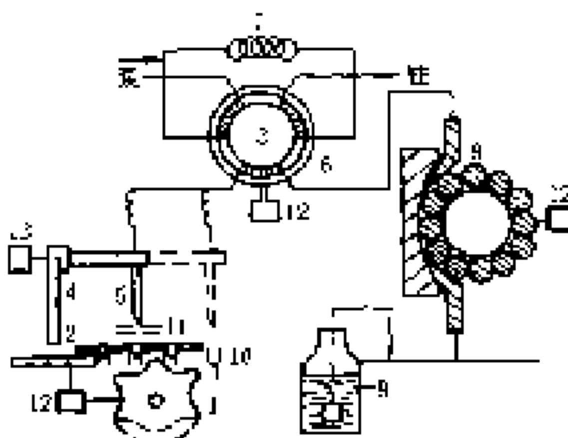


图 6-19　链式自动进样装置结构示意图

1—链轮；2—样品链；3—样品瓶；4—转角机构；5—取样针；6—进样阀；7—定体积量管；8—蠕动泵；9—清洗液瓶；10—样品瓶计；11—取样针定位；12—电机

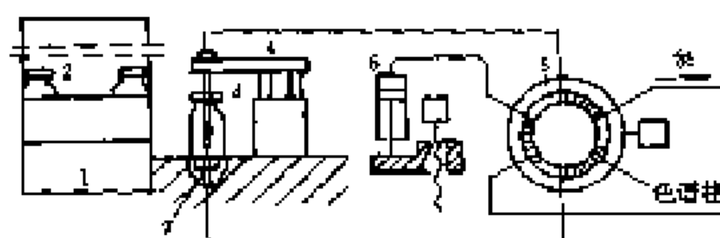


图 6-20　坐标式自动进样装置结构示意图

1—坐标式贮样盘；2—样品瓶；3—取样针；4—取样针升降机；5—方式切换阀；6—吸样泵；7—取样针插入口

表 6-3　不同自动进样器的工作步骤

自动进样器	工作步骤
圆盘式自动进样器	(1) 电机带动贮样盘旋转，对待分析样品置于取样针下方 (2) 电机正转丝杆带动滑块向下移，把取样针插入样品瓶塑料盖，滑块继续下移，将瓶管插入瓶内，在瓶盖挤压下样品经管道注入进样阀定量管，完成取样动作 (3) 进样阀切换，完成进样 (4) 电机反转，丝杆带动滑块上移，取样针恢复原位
坐标式自动进样器	(1) 取样针升起 (2) 微机控制坐标，贮样盘将待分析样品瓶置于取样针下 (3) 取样针下降，插入样品瓶内 (4) 自动吸样泵开启，取样量由微机控制 (5) 取样针下降插入进样器入口 (6) 方式阀切换，由流动相将样品带入色谱柱系统 (7) 吸样泵复位，方式阀复位

续表

自动进样器	工作步骤
链式自动进样器	(1) 链轮拨动样品链，将待分析样品瓶置于取样针下 (2) 转角机构由虚线位置转到实线位置，并下降插入样品瓶内 (3) 蠕动泵正转将样品吸入定量管，完成取样动作 (4) 进样切换，完成进样 (5) 转角机构返回虚线位置 (6) 蠕动泵反转抽入清洗液，清洗取样系统 (7) 进样阀复原 (8) 蠕动泵正转吸入空气，干燥取样管路

表6-4 不同类型进样装置的特征

进样装置	优点	缺点
注射器进样装置	结构简单，造价低，操作方便，进样量可变，不易引起色谱峰扩展，柱效高	进样量小，操作压力不能过高，重复性差，难以自动化
阀进样装置	进样量可变范围大，分析和制备通用，进样重复性好，可直接在高压下不停泵把样品送入色谱柱，加装上电动或气动驱动装置可实现自动化	阀死体积较大，易引起谱峰展宽，柱效比注射器进样下降约10%，为使阀的高压密封性能好，制造工艺要求高，故价格较高，维修较复杂
自动进样器	智能化进样，准确，可靠	价格较高，维修复杂

四、进样技术对峰扩展的影响

进样技术包括进样体积、进样时间、样品浓度、选用的进样装置、进样方式和进样位置。进样体积过大会使柱效下降，峰形变宽。进样时间越短越好，但较难控制，在注射器进样操作中宜尽快推动注射器，而在阀进样操作中进样时间受流动相的流速影响。在柱容量范围内时，注入较大体积稀溶液优于较小体积的浓溶液。控制样品浓度，浓度过大易使柱头瞬间饱和，造成谱峰严重展宽，分离度下降。柱头超载不仅与固定相有关，而且与溶质及溶剂的性质有关，一般认为样品浓度对谱峰扩展的影响比样品体积更为重要。

进样装置的死体积包括进样装置本身及其与色谱柱的连接部分的体积，死体积过大将使峰扩展增加。进样方式和进样位置对柱前峰扩展也有很大影响。采用“点进样”方式可减少柱前峰扩展，即将样品“呈点状”瞬时地注入到柱头的中心处，并使流动相流过整个柱入口截面。

第三节 色谱柱系统

色谱是一种分离分析手段，担负分离作用的色谱柱是色谱仪的心脏，柱效高、选择性好、分析速度快是对色谱柱的一般要求。商品化HPLC微粒填料，如硅胶，以及硅胶为基质的键合相、氧化铝、有机聚合物微球（包括离子交换树脂）的粒度通常为3 μm、5 μm、7 μm及10 μm，其填充柱效的理论值可达到（50 000～160 000）块·m^{-1}理论塔板数。5000块·m^{-1}理论塔板数的柱效的色谱柱即可满足分析一般样品的要求，对于同系物分析，通常只要500块·m^{-1}塔片数。较难分离物质可能需高达20000块·m^{-1}理论塔板数柱效的柱了，因此采用（100～300）mm左右的柱长就能满足复杂混合物分析的需要。由于柱效受柱内外多种因素的影响，因此为使色谱柱达到其应有的效率，除尽量减小系统的死体积外，设计合理的柱结构及柱装填方法是十分必要的。

一、液相色谱柱的类型和结构

液相色谱柱根据柱径大小可分为三种类型，内径小于 2 mm 的称为细管径或微管径柱；内径在 (2～5) mm 的是常规液相色谱柱，内径大于 5 mm 的称为半制备柱或制备柱。细管径柱的主要优点是节省溶剂，并使灵敏度提高，内径为 1 mm、2 mm 和 5 mm 的三种色谱柱，当保持相同的洗脱剂线速度时，溶剂消耗量比例为 1：4：25，细管径柱中洗脱剂流量小，体积峰宽随之减小，减小了对样品的稀释，有利于提高峰高灵敏度。另一方面，细管径柱柱体积小，柱外效应的影响不容忽视，需要配备更小池体积的检测器、接头、连接部件、进样设备和小流量泵，目前 2.1 mm 和 0.5 mm 内径的细管径柱已商品化。大于 5 mm 的粗柱子，主要用于制备，为了在足够短的时间内加大进样量，一般使用柱头大面积进样，而不是常规柱的"点进样"方法。

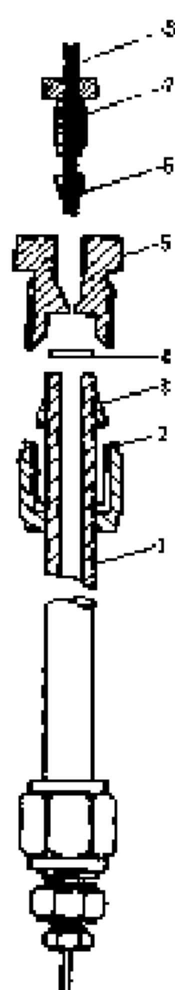


图 6-21　柱结构示意图
1—柱管；2—压帽；3、6—卡套；4—筛板；5—接口；7—螺丝；8—连接管

色谱柱的结构如图 6-21 所示，柱体由柱管、柱管末端接头卡套和过滤筛板等组成。接头与压帽按一定角度配合，使密封环卡住柱管，避免漏液。接口要求与管道成流线型平整对接，没有死角，死体积小。

多孔筛板的作用是一方面防止填料从柱中漏入检测器，另一方面阻止不溶性颗粒杂质进入色谱柱内，筛板一般采用耐化学腐蚀的烧结不锈钢或烧结镍材质制成，在柱压不高时，也可使用多孔聚四氟乙烯薄膜筛板。色谱柱中采用的筛板孔径应小于填料颗粒直径，一般孔径在(0.2～20) μm 范围。

用于色谱柱的连接管和柱接头，除能耐化学腐蚀和密封性好之外，死体积应尽可能小，一般均选用窄心管（内径在 0.13 mm 左右），这种管除可用作柱出口至检测器的连接管外，还可用于色谱柱之间的连接。

二、色谱柱的选择

在日常分析中，采用微粒高效固定相，100 mm 长柱子即可满足一般分离分析的要求，采用 3 μm 填料时，30 mm 长即可。采用 3 μm 高效固定相，尽管其柱效率高，但柱压降亦大，因此，采用 5 μm 或 10 μm 粒度的载体更佳。对于难分离样品，柱长可增加到 250 mm，如再增加柱长，虽然柱效高，但柱前压力太大，不便于操作，只在特殊情况下才采用。

常用分析柱的内径为 4.6 mm。随着柱技术的发展，细内径柱越来越受到人们的重视[3]，只要将柱外效应减至最小，细内径柱亦可获得与粗柱基本相同的柱效，而溶剂消耗量却大为下降。目前，已有 1 mm 甚至更细内径的高效填充柱商品出售，特别在与质谱联用时，为减小溶剂用量，常采用内径为 0.5 mm 以下的毛细管柱。

三、色谱柱的装填

填装色谱柱前，应依次用丙酮、苯、异丙醇和二次蒸馏水清洗柱、滤片、接头和连接管，用经清洁的空气或氮气吹干后备用。对于有油污的不锈钢管应首先清除油污，然后浸入体积比为 28：4：8：60 的 H_2SO_4-HNO_3-HCl-H_2O 抛光液中处理约 1min 后取出清洗，如表面有黑斑时，可用(70～80)%HNO_3 溶液去除，再按上述方法清洗柱子。

根据填料粒度的大小，高效液相色谱柱的装填可分为干法和湿法装填两种方法。

（一）干法装柱

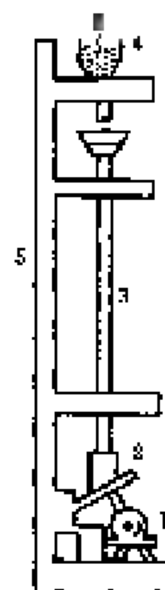


图 6-22 干法装柱装置

1—电动机；2—振动器；3—色谱柱；4—漏斗；5—支架；6—固定扣

对于直径大于 20 μm 的填料，一般采用经典的干法填充技术。先将已清洗干净的柱管一端加筛板后连接在接头上，另一端接小漏斗（见图 6-22）。装柱时分批分次加入（100～200）mg 填料，用抽气泵通过柱出口抽吸，柱初步装好后在地板或桌面上垂直敲击（2～3)次，如出现填料沉降时，重复上述操作直至柱充满。

将装填好的柱子与输液泵出口相连。在高于使用压力下输入流动相驱除填料中的空气，继续输液半小时，检查固定相装填是否达到最大密度。正常情况柱内填料应该不下沉，不呈现空隙。对低压柱，卸下后两端分别装填一小块硅烷化石英棉或聚四氟乙烯棉，堵住封口备用，对耐高压柱，用多孔不锈钢滤板堵塞柱子两端并密封备用。干法装柱的柱效在（500～5000）块 · m^{-1}之间。

（二）湿法装柱

目前高效液相色谱采用的填料粒度多在（3～10）μm 范围内（3 μm，4 μm，5 μm，7 μm，10 μm），这类微粒填料由于其表面活性很强，容易结团，干法装柱无法使填料填充紧密，必须采用湿法装柱技术。

湿法装柱常用两种方法，即等密度匀浆法和非等密度匀浆法。

1．等密度匀浆法

等密度匀浆法装柱装置见图 6-23。

此法通常选择两种溶剂，一种大于填料密度，另一种小于填料密度，通过适当的配比，制成与填料密度相同的混合溶剂，使填料悬浮在混合溶剂中，形成均匀的浆液。以装填微粒硅胶为例，可以采用四溴乙烷（密度 2.96 g · cm^{-3}，有毒，具有化学不稳定性）与四氯乙烯（密度 1.62 g · cm^{-3}）以质量比 60.6 : 39.4 混合，制成与硅胶密度相近（2.5 g · cm^{-3}）的混合溶剂，这种溶剂能够使硅胶颗粒在 30 s 内无沉降现象，与硅胶形成高度分散的匀浆体系。也可以采用四氯化碳加二氧六环溶剂来制备匀浆。

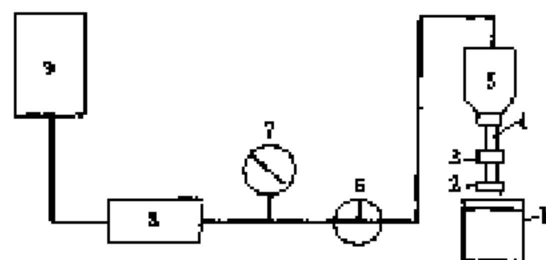


图 6-23 等密度匀浆法装柱流程图

1—柱；2—接头；3—接头；4—过滤柱；5—匀浆贮液罐；6—三通阀；7—压力表；8—泵；9—溶剂贮存罐

填料聚集作用的快慢与粒度大小有关，在其他条件相同时，相对聚集速度与颗粒度的关系为：以颗粒直径 5 μm 为 1，则 10 μm 为 4，20 μm 为 16.7，30 μm 为 33.3，40 μm 为 62.5，50 μm 为 100。也就是说 10 μm 粒径颗粒的聚集速度是5 μm颗粒的聚集速度的 4 倍，20 μm粒径颗粒的则为5 μm粒径颗粒的 16.7 倍，因此填料颗粒度越大，其匀浆的聚集速度越高，用匀浆法装填也就越难得到均匀一致的床层。

将制好的匀浆液超声脱气后加入到匀浆贮液槽内，盖好槽盖，然后将泵、容器和柱子连接好，关闭三通阀，开泵升压至 34.3 MPa，打开三通阀，使匀浆液迅速压入柱内，然后将柱子入口处安装好，并通入合适的溶剂进行冲洗，当压力下降至（9.8～19.6）MPa 时，说明匀浆液已被顶替液置换，柱子装填完毕。为了防止色谱柱内固定相产生反弹间松现象，应当在

此压力下维持一段时间，然后，缓慢减小泵压，直至停泵。

各种填料使用的顶替液不同：硅胶用脱水正己烷，正相键合相用己烷，反相键合相用甲醇，离子交换树脂可使用丙酮。溶剂密度和粘度、匀浆浓度（通常用 0.1 g·ml^{-1}）以及匀浆液进入柱中的速度和压力都会影响匀浆的装填效果，此外，四氯乙烷分解出的氯在硅胶表面的吸附作用，也会对柱效产生影响。

2. 非等密度匀浆法

非等密度匀浆法一般采用二氧六环和四氯化碳作溶剂，1 g 填料加二氧六环 3 ml，四氯化碳 6 ml，用类似于等密度匀浆的制备和装柱方法进行操作，所不同的是在匀浆上部加一定量水后再加压装柱。25 cm 柱所需填料的量见表 6-5。

表 6-5 25 cm 柱所需填料的量

柱内径/mm	填料量/g		
	薄壳型填料	全孔型填料	多孔氧化铝填料
2.1	1.4	0.5	0.9
3.1	5.1	1.0	1.8
4.6	3.1	1.7	3.1
7.8	17.5	6.3	11.5

四、色谱柱的评价

色谱柱的性能必须按一定的指标进行评价。一个合格的色谱柱评价报告应给出柱长度、内径、填料的种类与粒度、色谱柱的柱效，不对称度和柱压降等基本参数。评价液相色谱柱的仪器系统包括进样阀、连接管和检测器等，其死体积应尽可能小。在合理的操作条件下，评价色谱柱的样品可以完全分离并有适当的保留时间。表 6-6 列出了评价各种常用色谱柱的样品及其操作条件，当然也可以用其他适当的样品及条件来评价高效液相色谱柱。

表 6-6 评价各种常用色谱柱的样品及其操作条件①

柱	样　品	流动相(体积比)	进样量/μg	检测器
烷基键合相柱(C_8,C_{18})	苯、萘、联苯、菲	甲醇-水(83/17)	10	UV 254nm
苯基键合相柱	苯、萘、联苯、菲	甲醇-水(57/43)	10	UV 254nm
氰基键合相柱	三苯甲醇、苯乙醇、苯甲醇	正庚烷-异丙醇(93/7)	10	UV 254nm
氨基键合相柱(极性固定相)	苯、萘、联苯、菲	正庚烷-异丙醇(93/7)	10	UV 254nm
氨基键合相柱(弱阴离子交换剂)	核糖、鼠李糖、木糖、果糖、葡萄糖	水-乙腈(98.5/1.5)	10	示差折光检测
SO_3H 键合相柱(强阳离子交换剂)	阿司匹林、咖啡因、非那西汀	0.05 mol·L^{-1}甲酸胺-乙醇(90/10)	10	UV 254nm
R_4NCl 键合相柱(强阴离子交换剂)	尿苷、胞苷、脱氧胸腺苷、腺苷、脱氧腺苷	0.1 mol·L^{-1}硼酸盐溶液(加 KCl)(pH9.2)	10	UV 254nm
硅胶柱	苯、萘、联苯、菲	正己烷	10	UV 254nm

① 流速为 1 mm·s^{-1}，对柱内径为 5.0 mm 的色谱柱最大流量大约为 1 ml·min^{-1}。

第四节　检测系统

检测器、泵与色谱柱是组成 HPLC 的三大关键部件。经色谱柱分离后的样品组分与流动相一起进入检测器，检测器将样品的物理或化学特性信息转换为易测量的电信号输入到记录仪，并记录下来，得到样品组分分离的色谱图。由谱峰的位置、形状和大小可以判断分离的

优劣，同时进行定性、定量分析。

一、HPLC 检测器的特性

HPLC 中流动相和样品组分的物理和化学性质往往十分近似，因此一般不能使用气相色谱（GC）常用的氢火焰离子化检测器（FID）等高灵敏检测器（GC 中载气和样品组分的物理和化学性质有显著差异，FID 很容易检测载气中低浓度样品组分。而在 HPLC 中如使用 FID，必须预先将流动相除去）。HPLC 中只能以不受流动相干扰的样品组分物理和化学性质作为检测目标，如流动相没有紫外吸收，而被测组分有紫外吸收，可用紫外检测器。目前 HPLC 还缺少能广泛使用的通用型检测器，灵敏度高的检测器相对更少，理想的 HPLC 检测器应具有以下特性[1]：

① 具有高灵敏度和可预测的响应；

② 对样品所有组分都有响应，或具有可预测的特异性，适用范围广；

③ 温度和流动相流速的变化对响应没有影响；

④ 响应与流动相组成无关，可作梯度洗脱；

⑤ 死体积小，不造成柱外谱带扩展；

⑥ 使用方便、可靠、耐用，易清洗和检修；

⑦ 响应值随样品组分量的增加而线性增加，线性范围宽；

⑧ 不破坏样品组分；

⑨ 能对被检测的峰提供定性和定量信息；

⑩ 响应时间足够快。

很难找到全部满足上述全部要求的 HPLC 检测器，但可以根据不同的分离目的对这些要求予以取舍，选择较为合适的检测器。

二、HPLC 检测器的分类

HPLC 所用检测器一般分为两类，通用型检测器和专用型检测器。

（一）通用型检测器

通用型检测器可连续测量色谱柱流出物（包括流动相和样品组分）的全部特性变化，通常采用差分测量法。这类检测器包括示差折光检测器、介电常数检测器、电导检测器和近年发展的磁光旋转检测器等。通用型检测器适用范围广，但由于对流动相有响应，因此易受温度变化、流动相流速和组成变化的影响，噪声和漂移都较大，灵敏度较低，不能用于梯度洗脱。

（二）专用型检测器

专用型检测器用以测量被分离样品组分某种特性的变化。这类检测器对样品中组分的某种物理或化学性质敏感，而这一性质是流动相所不具备的，或至少在操作条件下不显示。这类检测器包括紫外检测器、荧光检测器、极谱检测器、放射性检测器等。

三、HPLC 检测器的性能指标

评价不同类型检测器，除各自的特征指标外还有一些共同的性能指标。

（一）噪声和漂移

噪声是指由检测器输出与被测样品组分无关的无规则波动信号，在特定灵敏度下用响应

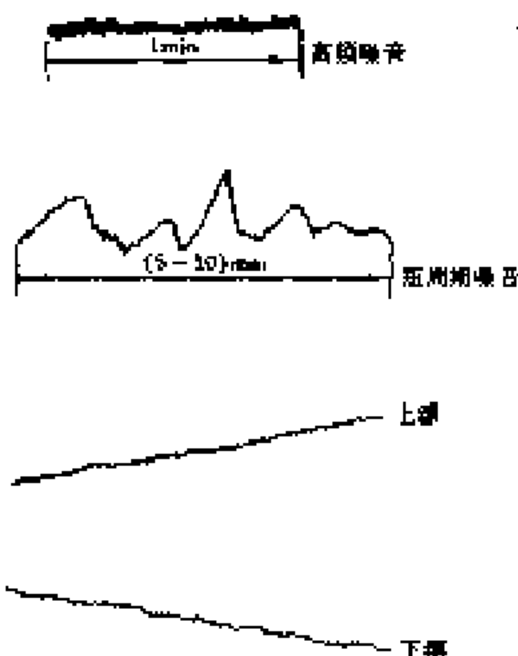


图 6-24　检测器产生的噪音和漂移

单位表示，可分为高频噪声和短周期噪声（图 6-24）两种。前者俗称“毛刺”，由比色谱峰出现频率高得多的基线无规则变动构成。一般说来高频噪声并不影响色谱峰的分辨，但可以影响检出限。这种噪声通常来自仪器的电子系统，因此关泵、流动相停止流动时仍然存在。高频噪声可用适当的滤波系统加以消除。短周期噪声由与色谱峰出现频率相似的基线无规变动构成，它与色谱峰很相似，因此难以分辨，特别是对小色谱峰影响更大。短周期噪声通常是由环境温度波动、流动相流速波动、流动相中的气泡以及流动相不纯所致。短周期噪声是与流动相有关的噪声，在关泵后随之消失。如噪声与流动相无关，需要再去寻找原因加以消除。

漂移是指基线随时间的增加朝单一方向（向上或向下）的偏离（图 6-24），由比色谱峰出现的频率低得多的基线无规则变动构成。造成漂移原因有检测器预热时间不够、环境温度或流动相流速的缓慢变化、柱中固定相流失、刚更换的新流动相在柱中尚未达到平衡等多种。检测器产生的漂移一般用一段时间内（一般为几个小时）检测器响应值的变化表示，通常用停流和不停流各走 30 min 的基线来评价一个检测器产生的噪声及漂移的强弱。

（二）灵敏度

灵敏度也称响应值，是一定量物质通过检测器时所产生的响应值的大小。检测器对样品检测的灵敏度是衡量检测器质量的一个重要指标。以进入检测器的样品量（m）对检测器产生的响应值(R)作图，可以得到如图 6-25 所示的响应值曲线。曲线直线部分的斜率就是检测器的灵敏度(S)，对浓度型检测器(HPLC 检测器绝大多数为浓度型)而言，Δm 以浓度（$g \cdot ml^{-1}$）为单位，而 ΔR 的单位则视不同检测器而异。同一检测器对不同样品的检测灵敏度一般不同，即响应值曲线的斜率不同。斜率越大，灵敏度越高。因此在说明检测器灵敏度时应注明测试条件（样品名称、流动相组成及流速等）。

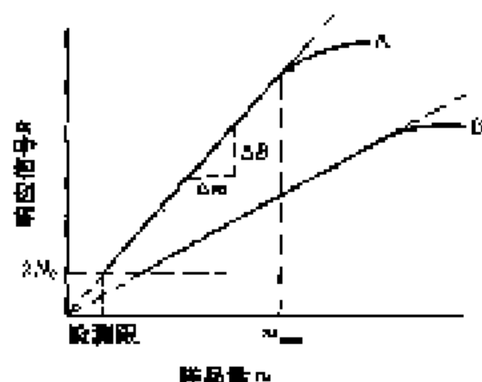


图 6-25　检测器响应值曲线

（三）检测限

检测限是指在噪声背景上恰能产生可辨认样品峰时的最低样品量。一般定义为可辨认样品峰信号 2 倍于噪声信号时的样品量，检测器的检测限与整个仪器噪声水平有关，可在检测器的响应值曲线中表示出来。检测限(D) 与噪声(N_0) 和灵敏度的关系为

$$D = 2N_0/S \tag{6-1}$$

检测限是检测器的一个重要特性指标，但检测限不只与检测器有关，而是与整个仪器系统都有关。如减小色谱柱尺寸（柱长、内径）和柱外死体积（样品池、进样器、连接管等）都可降低检测限。此外，检测限与仪器操作条件也有关，电压不稳定、流动相有气泡产生、仪

器被玷污、环境温度波动等与噪声有关的因素都将影响检测限。

（四）检测器的线性范围

线性范围是指检测器的响应值与样品量之间保持线性关系的样品量范围，以呈线性响应时样品量的上下限比值表示，线性范围的下限即为该仪器的检测限。当样品量大于某值时，响应值曲线开始向下弯曲，此时的样品量为最大进样量。超过最大进样量，检测器的响应值不再随样品量的增加而线性增加。只有在线性范围内，用检测器响应值进行样品的定量分析才为可靠，因此检测器的线性范围应尽可能大，以便可以同时测定大量和痕量的样品组分。

（五）检测器的死体积

检测器的死体积也是一个重要的检测器性能参数。死体积过大，将使谱峰变宽，检测器的灵敏度和分辨率降低。检测器死体积由样品池体积和样品池到色谱柱的联结管路体积组成。在满足检测要求的前提下，应可能减小死体积。因此检测器设计要使联接管路尽可能短。样品池的大小决定了检测器，样品池太小会降低灵敏度。当样品池体积小于有关峰体积的 1/10 时，检测器形成的峰扩展将不明显。一般 HPLC 检测器所用的样品池体积都小于 8 μl。

（六）检测器响应时间

检测器响应时间是指检测器跟踪被分离样品组分浓度变化的快慢程度。响应时间过长，则响应过慢，会使色谱峰变形失真，记录的谱峰比真实的谱峰显著加宽，峰高也比真实峰高低，类似于柱效降低，影响到色谱分析的可靠性和准确性，这种情况在进行快速分析时尤为突出。响应时间过快，高频噪声影响严重。研究表明检测器时间常数最大不应超过色谱峰标准偏差的三分之一。目前使用的检测器和记录仪（其时间常数对记录谱峰的影响与检测器相同）的时间常数一般在(0.5～1) s 范围内。

四、几种常用的 HPLC 检测器

（一）紫外吸收检测器(UV)

紫外吸收检测器是目前 HPLC 中应用最广泛的检测器，这种检测器灵敏度高，线性范围宽，对流速和温度变化不敏感，可用于梯度洗脱分离。紫外吸收检测器要求被检测样品组分有紫外吸收，而使用的流动相无紫外吸收或紫外吸收波长与被测组分紫外吸收波长不同，在被测组分紫外吸收波长处没有吸收。

紫外吸收检测器工作原理基于朗伯-比耳定律

$$A=\lg I_0/I=\varepsilon bc \qquad (6\text{-}2)$$

式中，A 为吸光度（消光值），I_0 为入射光强，I 为透射光强，ε 为样品的摩尔吸光度（吸光系数），b 为光程长，c 为样品的物质的量浓度。

一般选择在被分析物有最大吸收的波长下进行工作，以获得最大的灵敏度和抗干扰能力。测定波长的选择取决于待测溶质的成分和分子结构，分子中光吸收性强的基团叫发色基团，它与分子的外层电子或价电子有关。表 6-7 列出了一些典型发色基团的摩尔吸光系数和相应的最大吸收波长。文献［5］中对于各种基团的紫外吸收特征有更详细地介绍。

表 6-7 一些发色基团的最大吸收波长 λ_{max} 和摩尔吸光系数

发色团系统		λ_{max}/nm	ε	λ_{max}/nm	ε
醚基	—O—	185	1000		
硫醚基	—S—	194	4600	215	1000
氨基	$—NH_2$	195	2800		

续表

发色团系统		λ_{max}/nm	ε	λ_{max}/nm	ε
硫醇	—SH	195	1400		
二硫化物	—S—S—	194	5500	255	400
溴化物	—Br	208	300		
碘化物	—I	260	400		
腈	—C≡N	160			
乙炔化物	—C≡C—	175～180	6000		
砜	—SO_2—	180			
肟	—NOH	190	5000		
亚氨化物	—C═N—	190	5000		
烯烃类	—C═C—	190	8000		
酮	—C═O	195	1000	270～285	18～30
硫酮	—C═S	205	强		
酯	—COOR	205	50		
醛	—CHO	210	强	280～300	11～18
羧酸	—COOH	200～210	50～70		
亚砜	—S→O	210	1500		
硝基化合物	—NO_2	210	强		
亚硝酸酯	—ONO	220～230	1000～2000	300～400	10
偶氮	—N═N—	285～400	3～25		
苯		184	46700	202	6900
联苯				246	20000
萘		220	112000	275	7900
蒽		252	192000	375	7900

在选择测定波长时，必须考虑到所使用的流动相组成，因为各种溶剂都有一定的透过波长下限值，超过这个波长，溶剂的吸收会变得很强，以至于不能很好地测出待测物质的吸收强度。表6-8列出了HPLC中常用的溶剂透过波长的下限，下限值一般是指溶剂在以空气为参考，样品池厚度（即光程长）为1 cm的条件下，恰好产生1.0消光度（OD）时相应的波长，也就是在溶剂透过率为10%时相应的波长。表6-9中也列出了一些可用紫外光检测的无机阴离子。

表 6-8 常用溶剂透过波长的下限

溶剂	透过波长下限/nm	溶剂	透过波长下限/nm
丙酮	330	甲酸乙酯	260
乙腈	210	乙酸乙酯	260
苯	280	甘油	270
三溴甲烷	360	庚烷	210
乙酸丁酯	255	乙醇	210
丁醇	215	甲醇	210
二硫化碳	380	甲基环己烷	210
四氯化碳	265	甲酸甲酯	265
氯仿	245	硝基甲烷	365
环己烷	210	正戊烷	210
二氯乙烷	230	异丙醇	205
二氯甲烷	230	吡啶	305
甲酰替二胺	270	四氯代乙烯	290
二氧六环	220	甲苯	285
二乙醚	260	间二甲苯	290
环戊烷	210	2,2,4-三甲基戊烷	215
甲乙酮	330	异辛烷	230
二甲苯	290	乙醚	220
异丙醚	220	甲基异丁酮	330
氯代丙烷	225	四氢呋喃	220
二乙胺	275	戊醇	210

表6-9 在200 nm波长以上有紫外吸收的无机阴离子

S^{2-}	NO_3^-	$S_2O_8^{2-}$	I^-
SO_3^{2-}	NO_2^-	$SeCN^-$	IO_3^-
SCN^-	N_3^-	AsO_4^{3-}	BrO_3^-
$S_2O_3^{2-}$	Cl^-(非常弱)	AsO_3^{3-}	ClO_3^-(非常弱)
$S_4O_6^{2-}$	Br^-		ClO_2^-

（二）光电二极管阵列检测器（PDA）

普通的紫外可见吸收检测器只能测定某一波长时吸光度与时间关系曲线，即只能作二维图谱。要测定某组分的紫外可见吸收光谱图，需采用"停流扫描"的方法，使被测组分停留在检测池中，然后用波长扫描测定。近年来发展的光电二极管阵列检测器能够同时测定吸光度、时间、波长三者的关系，通过计算机处理，可以在荧光屏上显示出三维图谱，也可作出任意波长的吸光度-时间曲线（色谱图）和任意时间的吸光度-波长曲线（紫外可见光谱图）。参见图6-26及图5-3。

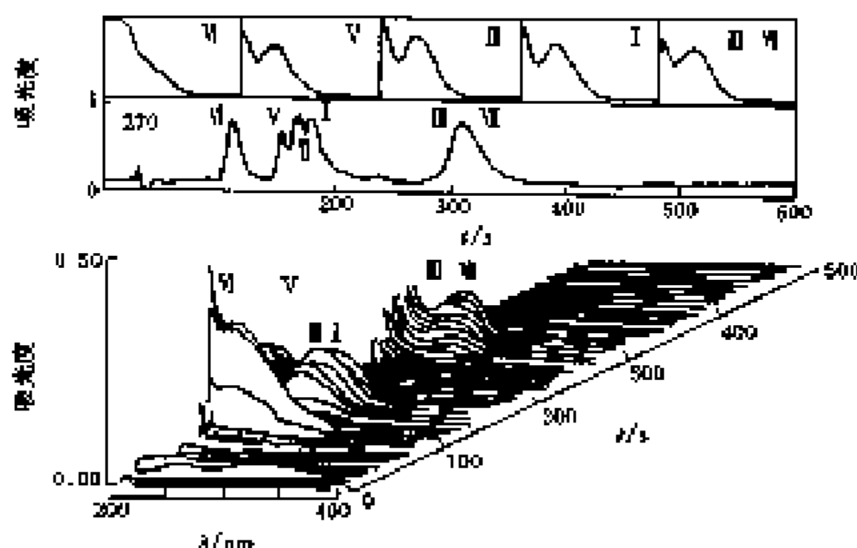


图6-26 由PAD得到的吸光度-时间-波长三维谱图

光电二极管阵列检测器光路如图6-27所示。光源发出的光经过凹面镜（或透镜）聚焦在检测池上。光束通过检测池时被样品特征吸收，然后被光栅分光，形成按波长顺序分布的光谱带。光谱带再被聚焦在阵列式接收器上（一般由512个光电二极管排列组成，波长范围为190 nm～800 nm）。阵列上每个光电二极管同时收到不同波长的光信号，并通过电子学的方法依次被快速扫描提取，储存到计算机中。扫描速度极快，每幅图像仅需10 ms，远远超过色谱峰流出速度。

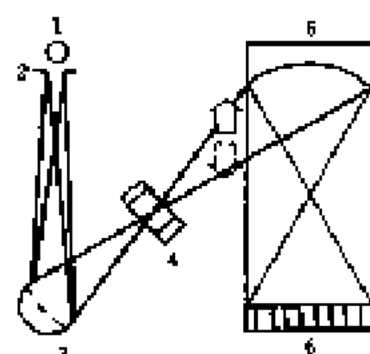


图6-27 PAD光路示意图
1—光源；2—狭缝；3—凹面镜；
4—样品池；5—光栅；
6—光电二极管阵列

光电二极管阵列检测器与普通紫外可见光吸收检测器相比，光路安排上有重要区别。前者光源发出的光束先通过检测池被吸收后再被分光；后者光源发出的光束先被分光，然后选择一束特定波长的光束通过检测池。因此前者很难制成双光束检测器，检测稳定性较差；后者可把通过检测池前的单色光

分成两束，一束通过检测池，另一束作为参考，实现双光束检测，检测稳定性大大提高。

（三）示差折光检测器（RID）

示差折光检测器也称光折射检测器，是一种通用型检测器。基于连续测定色谱柱流出物光折射率的变化而用于测定溶质浓度。溶液的光折射率是溶剂（流动相）和溶质各自的折射率乘以其物质的量浓度之和，溶有样品的流动相和流动相本身之间光折射率之差即表示样品在流动相中的浓度，原则上凡是与流动相光折射率有差别的样品都可用它来测定，其检测限可达$(10^{-6}\sim10^{-7})$ $g\cdot ml^{-1}$。表 6-10 中给出了常用溶剂在 20 ℃时的折射率。

表 6-10　常用溶剂在 20 ℃时的折射率

溶　剂	折射率	溶　剂	折射率
水	1.333	苯	
乙　醇	1.362	甲　苯	1.501
丙　酮	1.453	己　烷	1.496
四氢呋喃	1.404	环己烷	1.375
乙烯乙二醇	1.427	庚　烷	1.462
四氯化碳	1.463	乙　腈	1.348
氯　仿	1.446	甲　醇	1.355
乙酸乙酯	1.370	乙　酸	1.329
乙　醚	1.353	苯　胺	1.358
异辛烷	1.404	氯代苯	1.525
甲基异丁酮	1.394	二甲苯	1.500
氯代丙烷	1.389	二乙胺	1.387
甲乙酮	1.381	溴乙烷	1.424

示差折光检测器按结构可分为反射式和偏转式两类。偏转式折光检测器测量范围较宽（1.00～1.75），池体积较大，一般只在制备色谱和凝胶渗透色谱中使用。通常的 HPLC 都使用反射式，因其池体积很小（一般为 5 μl 左右），可获得较高的灵敏度。图 6-28 是这种检测器的光路示意图。

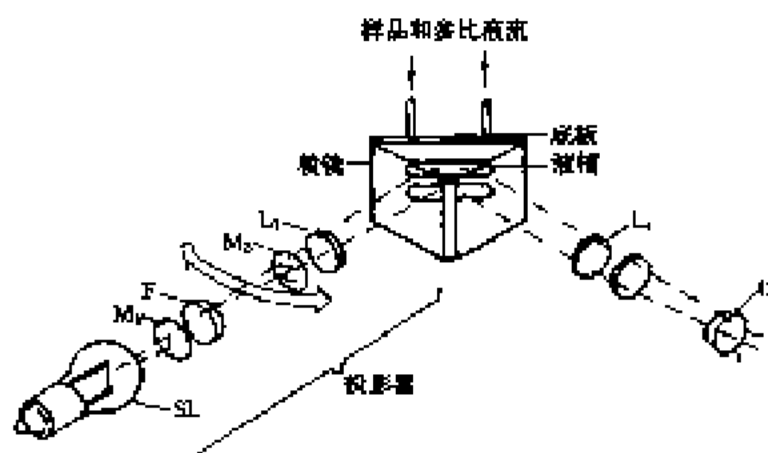


图 6-28　示差折光检测器的光路示意图

由光源 SL 发出的光经光栏 M_1，红外线滤光片 F，光栏 M_2 及透镜 L_1 后分成两束平行光，然后射到三角棱镜上，棱镜上装有样品池及参考池，它们的底面是经专门抛光的不锈钢镜面，池体的流槽是由夹在棱镜和不锈钢镜面之间的聚四氟乙烯垫片经挖空后形成的，透射光在界面上经反射回来后，再经透镜 L_2 聚焦在光敏电阻 D 上，将光信号转变成电信号。光源装在一

个可调的支架上，可调节入射角使之接近于临界角，获得最高的灵敏度。由于折射率对温度的变化非常敏感，大多数溶剂折射率的温度系数约为5×10^{-4}，因此检测器必须恒温，才能获得精确的结果。

（四）蒸发光散射检测器（ELSD）

蒸发光散射检测器（ELSD）是近年新出现的高灵敏度、通用型检测器。自从1985年第一台商品化的ELSD问世以来，已有多家厂商可以提供该种检测器。ELSD是一种质量型检测器，它可以用来检测任何不挥发性化合物，包括氨基酸、脂肪酸、糖类、表面活性剂等，尤其对于一些较难分析的样品，如磷脂、皂甙、生物碱、甾族化合物等无紫外吸收或紫外末端吸收的化合物更具有其他HPLC检测器无法比拟的优越性。此外，ELSD对流动相的组成不敏感，可以用于梯度洗脱。ELSD的检测灵敏度要高于低波长紫外检测器和示差折光检测检测器，检测限可低至10^{-10} g。另外，由于操作简便，可以与任何品牌的HPLC系统连接。

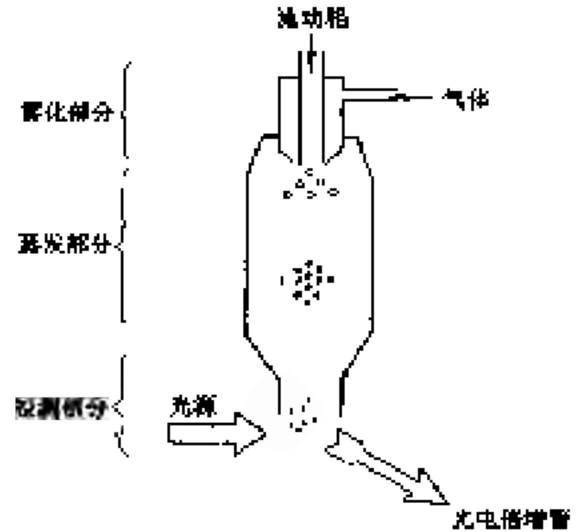


图6-29　ELSD组成结构示意图

ELSD由流出液雾化，溶剂蒸发，溶质检测三部分组成（如图6-29）。色谱流出液在雾化器的入口端被吹入的气体（通常为空气或氮气）部分雾化，较大的液滴聚集下来流到下端的虹吸管中作为废液排出，而气溶胶进入到蒸发管中。

气溶胶通过蒸发管时，其中的溶剂被蒸发掉，剩余的样品溶质被送入检测池。由于ELSD需将溶剂（即流动相）蒸发掉，才能对样品溶质进行检测，所以要求色谱流出液中的溶剂是可蒸发的有机溶剂或水，而不允许含有无机酸、碱或盐。ELSD通常采用的溶剂或有机改性剂列于表6-11中。

表6-11　ELSD中常用溶剂与有机改性剂

HPLC流动相	反相：CH_3OH，CH_3CN，H_2O
	正相：$CHCl_3$，CH_2Cl_2，$(C_2H_5)_2O$，C_6H_{14}
SFC流动相	CO_2，CH_3OH，$(C_2H_5)_3N$
其他流动相改性剂	NH_4OH，$(C_2H_5)_3N$，NH_4OAc，$HCOOH$，CH_3COOH，CF_3COOH，HNO_3

在蒸发管末端，载气将样品溶质微粒带入检测池（图6-30）。检测池由一定角度的钨/卤灯（有的ELSD以激光作为光源）和光电倍增管组成。光源发出的光在样品微粒上发生散射后被光电倍增管检测，散射光强度与样品微粒质量的关系为

$$I=km^b \tag{6-3}$$

式中，m为微粒质量，k、b为实验条件（如温度、流动相性质）决定的常数。因此可以根据散射光强度对样品进行定量分析。

ELSD作为通用型检测器也存在着一些不足：① 耗气量大（大约500 ml·min^{-1}，相当于1钢瓶气体/24 h）；② 对于某些样品（如磷脂）检测器线性范围较窄，质量与峰面积有时不呈线性关系，常需要通过计算机模拟来校正响应，较为复杂；③ 若样品溶质为挥发性的，将会与溶剂一同蒸发，导致无法检测或响应极弱，往往需要通过降低蒸发温度才能准确定量。

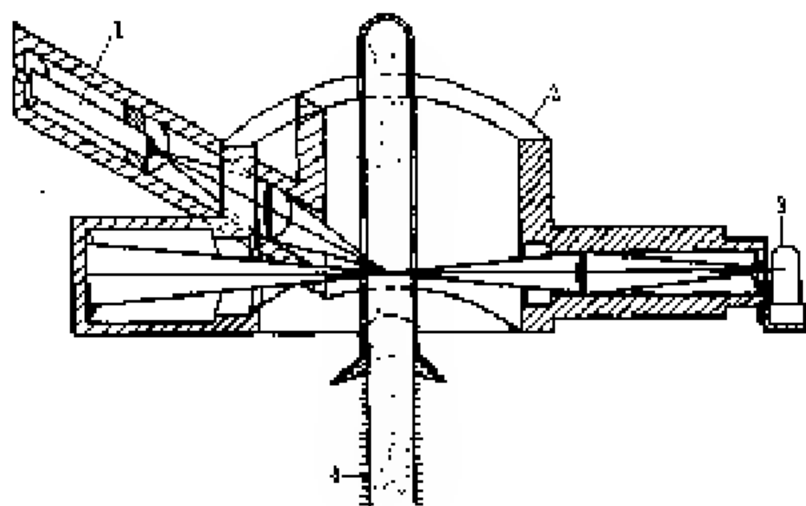


图 6-30　ELSD 检测池结构

1—光电倍增管；2—检测室；3—钨卤灯；4—漂移管

（五）荧光检测器

许多化合物，特别是芳香族化合物、生化物质，如有机胺、维生素、激素、酶等被入射的紫外光照射后，能吸收一定波长的光，使原子中的某些电子从基态中的最低振动能级跃迁到较高电子能态的某些振动能级，之后，由于电子在分子中的碰撞，消耗一定的能量而下降到第一电子激发态的最低振动能级，再跃迁回到基态中的某些不同振动能级，同时发射出比原来所吸收的光频率较低、波长较长的光，即荧光，被这些物质吸收的光称为激发光（λ_{ex}），产生的荧光称为发射光（λ_{em}）。荧光的强度与入射光强度、量子效率、样品浓度成正比。图 6-31 是固定波长荧光检测器（FSD）示意图。

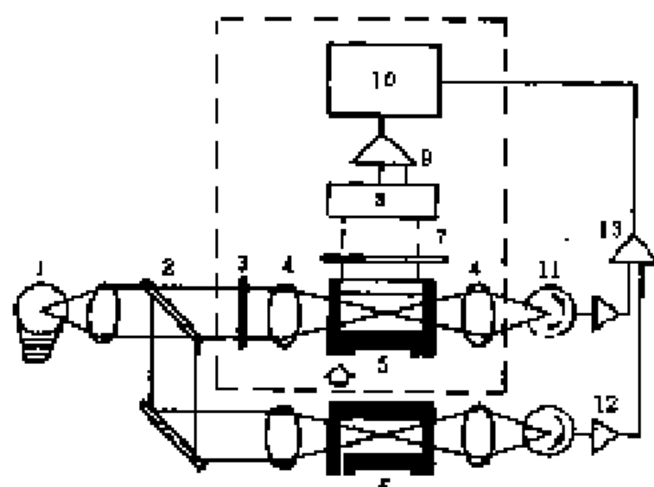


图 6-31　荧光检测器示意图

1—氙灯光源；2—10%反射镀镜；3—激发光滤光片；4—透镜；5—测量池；6—参比池；7—发射光滤光片；8—光电倍增管；9—放大器；10—记录器；11—光电管；12—对数放大器；13—线性放大器

光源发出的光经半透镜分成两束后，分别通过吸收池和参比池，再经滤光片后，照射到光电倍增管上，变成可测量的信号。参比池有助于消除外界的影响和流动相所发射的本底荧光。一般采用氙灯作光源，以便获得宽波长范围（250 nm～600 nm）的连续强光谱。若在半透镜前置一单色器分光，测量池后也采用单色器选择测定波长，这种结构即为荧光分光检测器。

某些物质虽然本身不发光，但含有适当的官能团可与荧光剂发生衍生化反应，生成荧光衍生物，它们也可用荧光检测。衍生方法有两种，其一为柱前衍生化，此法较简单，但定量重复性较差；其二为柱后衍生化，此法重复性好，但会造成谱峰的扩展参见第九章。在氨基酸和肽的分析中，经常采用荧光胺作为衍生化试剂，邻苯二甲醛、丹磺酰氯也是常用的衍生化试剂。文献［5］对不同种类的衍生化试剂的特征及应用已作了较详细介绍。

荧光检测器的最大优点是极高的灵敏度和良好的选择性。一般来说，它比紫外吸收检测器的灵敏度要高 10～1000 倍，可达 $\mu g \cdot L^{-1}$级，而且它所需要的试样很小，因此在药物和生化分析中有着广泛的用途。

（六）电导检测器

电导检测器是离子色谱中使用最广泛的检测器，其作用原理是用两个对电极测量水溶液中离子型溶质的电导，由电导的变化测定淋洗液中溶质浓度。这种检测器的死体积小，如采用抑制电导法，其灵敏度可达 $10^{-8}\ g \cdot ml^{-1}$，线性动态范围为 10^{5}。

将电解质溶液置于施加电场的两个电极间，溶液的电导值（电阻值 R 的倒数）与电极截面积 A、两极间的距离 l 和各离子电导的总和 $\sum c_i\lambda_i$ 之间有如下关系

$$\frac{1}{R}=\frac{1}{1000}\frac{A}{l}\sum c_i\lambda_i \tag{6-4}$$

式中，c_i 为某一离子的物质的量浓度；λ_i 为该离子的摩尔电导。

离子的摩尔电导随溶液浓度的改变而变化。在无限稀释情况下，离子的摩尔电导达到最大值，称为极限摩尔电导。在表 6-12 中列出了常见离子在水中的极限摩尔电导值。

表 6-12　水溶液中离子的极限摩尔电导

离　子	λ_∞	离　子	λ_∞	离　子	λ_∞	离　子	λ_∞
OH^-	198	乙酸盐	41	H^+	350	Zn^{2+}	53
F^-	54	丙酸盐	36	Li^+	39	Hg^{2+}	53
Cl^-	76	SCN^-	66	Na^+	50	Cu^{2+}	55
Br^-	76	SO_4^{2-}	56	K^+	73	Pb^{2+}	71
I^-	77	CO_3^{2-}	72	NH_4^+	74	Co^{2+}	55
NO_3^-	7	PO_4^{3-}	69	Ag^+	62	Fe^{2+}	58
HCO_3^-	45	$Fe(CN)_6^{4-}$	101	Tl^+	75	Mg^{2+}	53
BrO_3^-	41	$Fe(CN)_6^{3-}$	111	Ca^{2+}	60	$CH_3NH_3^+$	58
ClO_3^-	65	[illegible]	55	Sr^{2+}	59	$(CH_3)_2NH_2^+$	52
ClO_4^-	67	甲酸盐	58	Ba^{2+}	64	$(CH_3)_3NH^+$	47

电导测量中，A/l 称为电导池常数 K。电导池常数为 1 时，测定出的电导值称为比电导率，其单位为 $\Omega \cdot cm^{-1}$，水溶液的电导值常用单位为 $\mu\Omega \cdot cm^{-1}$。比电导率仅与溶液中离子浓度有关，对于浓度在 $10^{-3}mol \cdot L^{-1}$以下的稀溶液，离子摩尔电导值接近极限摩尔电导值。可以用表 6-12 中的数据和公式（6-4）计算溶液的电导值。

（七）安培检测器

安培检测器采用固体工作电极，电极可用于较高的正电位，故能检测氧化性物质，适用范围很宽。安培检测器结构简单，池体积小，响应快，噪声低，灵敏度高。但是由于电极表面不能更新，容易污染。图 6-32 给出了典型的薄层式安培检测器结构图。

图 6-31 中工作电极一般是以碳糊、石墨或玻碳为载质，表面经过严格抛光制成的。碳糊电极在制备时要按一定比例掺入精制液体石蜡、润滑剂、矿物油或硅油等。参比电极一般为 Ag/AgCl 电极，辅助电极是用金或白金制成的。一般在工作电极和参比电极之间施加一恒定的电位，经色谱分离后的溶质通过一个很小体积的薄层池，当所加的电位比要分析溶质的氧化电位更正时（若使用还原剂则所加的电位比要分析溶质的还原电位更负），溶质就会在电极和溶液之间发生氧化（或还原）反应，这样在溶液和电极之间就会产生电子转移，从而形成电流，将这种很微弱的电流接收、放大并记录下来，就得到了色谱图。

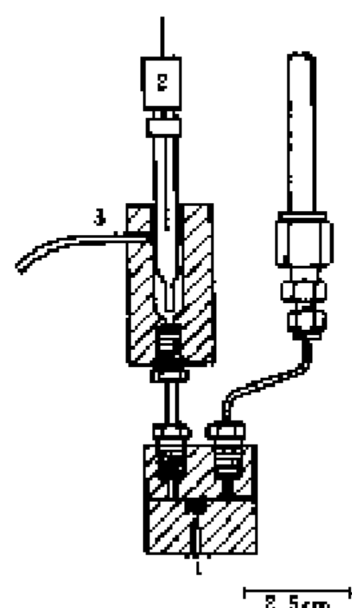


图 6-42　典型的薄层式安培检测器结构图
1—工作电极；2—参比电极；3—辅助电极

（八）化学反应检测器

HPLC 的发展要求通用型的高灵敏度检测器。前面介绍的 HPLC 常用检测器中灵敏度高者都是选择型检测器，要求被测物质具有某些特定的性质，通用型检测器只有示差折光检测器及蒸发光散射检测器两种，灵敏度皆不很高，达不到分析微量以致痕量成分的目的。因此，近年来发展了将被测物质进行某种化学反应（衍生反应、酶反应等）后再用高灵敏度的某种检测器检测的化学反应检测器。氨基酸分析仪是其典型应用。将无色的氨基酸通过色谱柱分离后与衍生化试剂茚三酮反应，生成在 570 nm 处有强吸收的有色化合物，然后用紫外-可见光吸收检测器检测。表 6-13 列出了可用于 HPLC 化学反应检测器的一些化学物质。

化学反应检测器的最初阶段多采用液液化学反应，这种反应方式会引起本底增高，并由于柱外效应引起谱带展宽，限制了化学反应检测器的使用。近年来，开始探索液固化学反应在化学检测器中的应用，发展了固相化学反应检测器。这大大减小了柱外效应，过量的反应试剂和催化剂也不会进入检测器，减小了本底和对谱带展宽的影响，使化学反应检测器得到较快发展。特别是近些年来生物医学中使用了固定化酶反应器，大大提高了 HPLC 化学反应检测器的检测能力。

表 6-13　用于 HPLC 化学反应检测器的某些化学物质

试　剂	检测的化合物	说　明
荧光胺	胺、氨基酸、肽	快速，很灵敏，荧光检测
邻苯二甲醛	胺，氨基酸	快速，很灵敏，荧光检测
茚三酮	胺，氨基酸	140 ℃，1 min，570 nm、440 nm 检测
邻硝基酚钠盐	羧酸、其他酸	快速，532 nm 检测
2,4-二硝基苯肼	醛、酮	反应时间 3 min，430 nm 检测
Ce^{4+}	酚、糖类、羧酸，其他可氧化有机物	反应时间和温度对不同化合物不同，荧光检测
酶和酶作用物	酶抑制剂(如有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂)	很灵敏，特征反应
对于某一特定酶的反应物	任何酶类(例如乳酸脱氢酶、肌酸磷酸转移酶、碱性磷酸酯酶等)	很灵敏，特征反应
Griess 试剂	亚硝酸酯、亚硝胺、亚硝基、氨基甲酸酯、亚硝酸烷基酯	反应时间 3 min，550 nm 检测
铁氰化合物	还原糖、可氧化的化合物	用电化学检测器检测亚铁氰化物
新亚铜试剂	还原糖	反应(3～15) min，97 ℃
5,5'-二硫代(2-硝基)苯甲酸	硫醇或带有—SH 的酶类	快速反应，412 nm 检测
乙二胺-六氰高铁酸盐	儿茶酚胺	75 ℃，5 min，λ_{ex} 400 nm，λ_{em} 510 nm，荧光检测
Kober 反应(H_2SO_4-氢醌)	雌激素类	130 ℃，(10～15) min，λ_{ex} 535 nm，λ_{em} 561 nm，荧光检测
9,10-菲醌	胍基化合物	60 ℃，[illegible] min，λ_{ex} 365 nm，λ_{em} 460 nm，荧光检测
N-甲基烟酰胺	—CH_2—CO—基团	100 ℃，2 min，λ_{ex} 380 nm，λ_{em} 450 nm，荧光检测
异烟肼	Δ^4-3-酮甾类	70 ℃，2 min，λ_{ex} 460 nm，λ_{em} 490 nm，荧光检测

（九）其他检测器

在 HPLC 中除上述常用检测器外，还有一些检测器可供选择使用。

1. 介电常数检测器

介电常数检测器是一种通用型检测器，灵敏度低，通用性强。工作原理是：随流动相中流出组分的改变，其介电常数、电容量也改变，因此测定流动相的电容量变化，即可检测组分的变化。介电常数检测器性能类似于示差折光检测器，但其应用不如前者普遍。

2. 电位测定检测器

电位测定检测器利用离子选择电极测定流出液的电位，流出液组成改变，电位也发生变化。使用不同的离子选择电极（如卤离子电极，银离子电极等）可测定不同的离子浓度变化情况。

3. 放射性检测器

放射性检测器是一种检测流动相中有放射性标记组分的特殊检测器，其响应范围很宽，对没放射性的流动相成分的改变不敏感，可有效地使用梯度洗脱技术。

4. 光电导检测器

光电导检测器是利用某些化合物受强烈紫外光照射引起光电离形成离子的现象，在电导池中检测。这种检测器对卤代物和许多含硫和氮的光敏化合物有选择性响应。光电导检测器对某些化合物的灵敏度比紫外-可见光吸收检测器还高，可达 10 g，两者线性范围相似。

5. 红外检测器

红外吸收可用作 HPLC 的选择性检测。这种方法主要用于凝胶色谱，且只能用于流动相对所用红外波长没有吸收的体系。这里所说的红外检测器与 HPLC-FTIR 联机时 FTIR 作为检测器不同，后者由于快速扫描和快速傅里叶变换，不用停流就可以得到每一个色谱峰的红外光谱图。

常用的 HPLC 检测器一般性能列于表 6-14。

表 6-14 常用 HPLC 检测器的一般特性

性能	紫外-可见	示差折光	放射性	电化学	红外	荧光	蒸发光散射
类型	选择型	通用型	选择型	选择型	选择型	选择型	通用型
梯度洗脱	可以	不可以	可以	不可以	可以	可以	可以
线性范围	10^5	10^4	很大	10^5	10^4	约 10^3	较小
灵敏度	10^{-10} g·ml^{-1}	10^{-7} g·ml^{-1}	50cpm ^{14}C·ml^{-1}	10^{-12} g·ml^{-1}	10^{-8} g·ml^{-1}	10^{-11} g·ml^{-1}	10^{-10} g
对流速敏感性	不敏感	不敏感	不敏感	敏感	不敏感	不敏感	不敏感

第五节 液相色谱分析中常出现的问题及解决方法

作为优秀的色谱工作者，不仅要有熟练的操作技能，避免因操作不当引起仪器故障，而且应掌握仪器系统的保养知识，并能够在仪器系统出现故障时，查明原因，排除故障，使仪器系统正常运行。对 HPLC 系统故障的排除已有专门论述[4]，本节只对一般情况加以简单说明。

一、液相色谱输液泵常见故障

表6-13 液相色谱输液泵常见故障的判断和排除

现象	原因	排除方法
1. 压力高于正常值	(1) 流量设定值有误	(1) 重新调整
	(2) 泵出口过滤器堵塞	(2) 拆下过滤器用硝酸超声清洗
	(3) 柱头被污物堵塞	(3) 拆开柱头，清洗柱头过滤片，如杂质颗粒已进入色谱柱，应小心清除堵塞去除污物和已被污染的填料，然后用相同类型的固定相填料补平，切勿使柱头留下空隙
	(4) 柱前过滤器阻塞	(4) 清洗柱前过滤器，清洗后如压力还高可换上新的过滤器
2. 压力低于正常值或者流量小于设定值	(1) 系统接头处泄漏	(1) 将泄漏处重新拧紧或更换密封环，也可滴一点氯仿乙烯溶液临时解决问题，待以后再作处理
	(2) 柱塞密封处泄漏	(2) 更换新柱塞密封圈
3. 在无流速时，压力显示高于或低于零点	压力传感器输出未调好	用小螺丝刀调节压力传感器螺丝，直到显示数值为零
4. 柱压升高柱效能减少	(1) 柱子、保护柱或预柱部分堵塞	(1) 清洗或更换柱入口过滤片，更换柱子
	(2) 检测池或检测器的入口管、部分堵塞	(2) 拆卸并清洗检测池和（或）管路
5. 柱压波动	(1) 高压系统中有泄漏（入口阀座、进样阀、入口紧固件等）	(1) 找出并排除泄漏
	(2) 单向阀被污染，部分堵塞	(2) 观察柱塞推杆的动作，向前推压力下降，入口阀有问题；向后退压力下降，出口阀有问题，应拆下泵头清洗或更换单向阀
	(3) 泵缸中有气泡	(3) 在泵的出口接一只10ml注射器，抽动注射器用产生负压的方法将气体吸出，如果不成功可反复多次直到气泡排净为止
6. 泵流速变小	(1) 泵内气泡聚集	(1) 同泵缸中有气泡的情况
	(2) 溶剂过滤器阻塞	(2) 打开冲洗阀，如溶剂不能很快流出，说明过滤器堵塞，可清洗或更换
	(3) 入口单向阀过滤片堵塞	(3) 如果出口单向阀过滤器无故障，拆下泵头将钢管插入管，溶剂不流出，说明入口单向阀过滤片堵塞，应拆下清洗或更换
	(4) 泵中两种溶剂不互溶	(4) 用一种与两种溶剂中间极性的过渡溶剂来替换互不溶解的流动相溶剂
	(5) 柱塞密封泄漏	(5) 更换柱塞密封
	(6) 参比阀泄漏	(6) 上紧或拆下更换阀座
	(7) 泵头位置不对	(7) 重新调整泵头位置
7. 泵不吸液	(1) 泵头内有气泡积聚	(1) 排除气泡
	(2) 入口单向阀堵塞	(2) 检查更换
	(3) 出口单向阀堵塞	(3) 检查或更换
8. 有柱压但检测器中没有流动相流出	(1) 系统中严重泄漏	(1) 修理漏损，进样阀或泵与检测器之间的管路和紧固件
	(2) 流路堵塞	(2) 清除进样器口、进样阀或柱与检测器之间的连接管及检测池内的杂质
	(3) 柱入口端被微粒堵塞	(3) 清洗或更换柱入口过滤片，另换一支柱子，过滤所有样品和溶剂
9. 开泵后没有流量指示和柱压	(1) 泵缸中有空气	(1) 在泵中灌注溶剂：拆开泵的出口接头并在最大流量下开泵，直到没有气泡出现为止
	(2) 在泵与柱或进样系统间严重泄漏	(2) 排查泄漏处
	(3) 溶剂贮槽已空	(3) 添满贮槽

续表

现　象	原　因	排除方法
10 流量不稳	(1) 泵头内有气泡聚集	(1) 用30 ml注射器抽出泵头溶剂，然后再流速压入泵内，同时打开阀使气泡排出
	(2) 泵中溶剂分层	(2) 采用脱气溶剂使用前再过滤
	(3) 高压脉冲阻尼器堵塞或有故障	(3) 检查并排除
	(4) 泵头失灵	(4) 检查泵头位置是否适宜，用异丙乙醇标样作为内标物，检查流量的稳定性
	(5) 输液管路堵塞或部分堵塞	(5) 逐段检查管路进行排除
11 没有压力	(1) 由泵头内有气泡	(1) 同"流量变小"的排除方法
	(2) 进样阀渗漏	(2) 检查并排除
	(3) 泵压缩管路漏	(3) 用扳手上紧接头或换上新的密封
	(4) 单向阀漏	(4) 上紧或拆下换新阀
12 泵有尖叫声	活塞密封粘结	调节泵头柱塞密封，如还不正常则可更换泵头密封
13 泵有咔哒声	(1) 活塞杆粘结	(1) 拉出活塞杆检查，对粘结活塞杆的泵头应重新清洗
	(2) 柱塞密封粘结	(2) 检查、更换

二、高效液相色谱柱常见故障

表 6-16　高效液相色谱柱常见故障的判断及排除

现　象	判　断	排除方法
1 柱压高于正常值	(1) 柱端过滤器堵塞 (2) 长期使用在柱端固定相粘结 (3) 分析生化、染料等易污染固定相的样品	(1) 拆下过滤器用硝酸超声清洗 (2) 挖掉粘结部分修补柱端 (3) 采用保护柱
2 柱压低于正常值	某连接处渗漏	寻找渗漏处，拆下柱子适当拧紧或衬用四氟乙烯胶带
3 塔板数下降	(1) 柱端塌陷 (2) 柱被污染	(1) 柱再生或换柱 (2) 清洗

三、根据色谱图的变化判断仪器故障

表 6-17　根据色谱图的变化判断仪器故障或方法失误

故障现象	可能的原因	排除方法
进样后不出峰	(1) 检测器选择不当，样品无吸收	(1) 正确选择检测器，如样品无紫外吸收就不应选UV检测器，而应选其他的检测器
	(2) 试样溶液浓度太低，而检测灵敏度不高	(2) 应适当提高样品浓度和进样量，并提高检测灵敏度
	(3) 检测器到记录仪之间的输入信号线连接不好或断开	(3) 修理接好信号并将灵敏度调到适宜的位置
	(4) 记录仪的信号线接错	(4) 检查接线，防止错连接
	(5) 进样用注射器堵塞或泄漏，使样品溶液不能进入进样阀	(5) 修理注射器或更换新注射器
进样不出峰或者峰高不正常	(1) 注射器堵塞	(1) 更换新注射器
	(2) 阀转子上针头密封垫磨损导致泄漏	(2) 更换新的零件
	(3) 选用的注射器针头与阀不匹配	(3) 更换合适的针管
	(4) 定子与转子接触密封面损坏引起内部泄漏	(4) 损坏不严重时轻量研磨，使之密封性良，否则更换新的转子
	(5) 定体积量管堵塞	(5) 设法打通，或者换新的

续表

故障现象	可能的原因	排除方法
出现无名峰	(1) 注射器针头密封垫及进样阀导管污染 (2) 阀样品通路清洗不干净	(1) 清洗阀的样品通路 (2) 方法同(1)
峰形拖尾	(1) 进样阀定量管与阀连接处出现死区 (2) 进样器内有污染或不干净 (3) 色谱柱选择不当,试样与固定相间有作用 (4) 进样技术差 (5) 样品在流动相中溶解度小 (6) 进样量太大 (7) 色谱柱与阀的连接管连接处出现死区	(1) 更换新管消除死区 (2) 可先用 3:1:4 的硝酸-硫酸-水的混合溶液清洗,接着用蒸馏水清洗,然后用丙酮或乙醇等溶剂清洗、烘干 (3) 更换色谱柱 (4) 提高进样技术 (5) 选用对试样溶解能力强的溶剂作为流动相 (6) 减少进样量 (7) 重新接柱或更换
分离度变差	(1) 柱端固定相板结 (2) 柱端床层塌陷 (3) 柱子寿命已到 (4) 进样量过大 (5) 样品浓度过大 (6) 试样溶解不完全 (7) 试样粘度大 (8) 色谱柱污染柱效下降	(1) 挖除修补,重填固定相 (2) 修补柱端 (3) 更换新柱 (4) 减少进样量 (5) 减小配样浓度 (6) 换溶剂使其完全溶解 (7) 减少进样量,降低进样浓度 (8) 更换柱子或以强极性溶剂冲洗
保留时间不重复	(1) 更换流动相时旧流动相未完全被取代掉 (2) 正相柱中流动相脱水不完全 (3) 柱温变化 (4) 缓冲液容量不够 (5) 柱内条件变化 (6) 柱塌陷或形成短路通道	(1) 延长平衡时间 (2) 重新脱水 (3) 柱恒温 (4) 用较浓的缓冲液 (5) 稳定进样条件,调节流动相 (6) 更换色谱柱
出现无规律色谱峰	长期进样滞留在柱中的组分被洗脱出来	用强极性溶剂冲洗再用流动相平衡
平顶峰	(1) 色谱柱超载 (2) 记录仪灵敏度过高 (3) 记录仪机械部分有故障 (4) 记录仪接收的信号超过了测量范围 (5) 检测池及其透镜、棱镜等光学附件污染	(1) 减少进样量 (2) 适当降低记录仪的灵敏度 (3) 参阅有关说明书进行修理 (4) 改变记录仪量程 (5) 清洗检测池以及透镜、棱镜等光学附件
出负峰	(1) 记录仪或衰减器极性接反 (2) 用示差折光检测器检测时,样品的折光指数小于流动相溶剂的折光指数 (3) 使用的流动相不纯净 (4) 样品池与参比池接反 (5) 进样故障 (6) 光电池与放大器接错 (7) 用UV检测器时,溶解样品所用的溶剂与流动相溶剂不相互溶或两溶剂pH值不同。当溶剂流过检测池时,光在两种互不混溶液的界面上产生折射,从而使光电池接受到不同强度的光,光强度减弱,以至于低于参比,也可出负峰	(1) 纠正极性连接错误 (2) 若要得到正峰,可改变检测器或记录仪的极性 (3) 使用纯净的流动相 (4) 对换 (5) 使用进样阀,确认在进样期间样品环中没有气泡 (6) 检查后正确连接 (7) 应尽量采用能与流动相溶剂互溶的溶剂来溶解样品,最好用流动相作为样品溶剂

续表

故障现象	可能的原因	排除方法
色谱峰未分开	(1) 色谱柱分离度差，柱效不高	(1) 选择高效柱或重新装柱
	(2) 色谱柱及色谱条件(固定相、检测器、温度、流速、柱子等)选择不当	(2) 再行试验选择最佳色谱分离条件
	(3) 柱子过载	(3) 减少进样量或采用"再循环分离"技术
	(4) 流动相黏度过大	(4) 适当降低黏度
	(5) 柱中填料流失过多，增加了柱外效应	(5) 更换色谱柱
	(6) 进样技术不佳	(6) 提高进样技术
有鬼峰(假峰)	(1) 不同批号不同处理条件的溶剂分别用来溶样或作为流动相时，易出空峰	(1) 最好使用同一批，又是在同一条件下处理过的溶剂，用它分别作为流动相或溶样，则有可能避免出假峰
	(2) 流动相溶剂中有杂质或气泡，用梯度流动相配样会出空峰	(2) 对流动相溶剂，应坚持先以0.5 μm过滤膜过滤和脱气后再使用
	(3) 样品中未知物	(3) 处理样品
	(4) 柱未平衡(尤其易见于梯度色谱)	(4) 重新平衡柱；用流动相作样品溶剂
	(5) 进样阀残余峰	(5) 每次使用后用强溶剂清洗阀
	(6) 与流动相的组成不同的样品溶剂洗脱	(6) 用流动相溶解样品；大大减少进样量
	(7) 用不同批号的溶剂溶解样品	(7) 应尽量采用同一溶剂和相同处理条件的溶剂溶样，若采用不同溶剂时，应注意空白实验带来的影响
基线不能回零	(1) 样品浓度大	(1) 适当减小样品浓度，并采用稀释度更大的溶解剂
	(2) 进样量太大，柱超载	(2) 减小进样量
	(3) 溶解样品的溶剂与流动相溶解不匹配	(3) 尽量采用流动相的溶剂来溶解试样
	(4) 柱效低，柱内有空隙	(4) 改用高效柱或重新装柱
	(5) 进样装置部分堵塞	(5) 检修进样器并清洗之
基线有噪声	(1) 记录仪与检测器信号输出接触不良	(1) 检查并接好信号线
	(2) 电压不稳	(2) 采取稳压措施
	(3) 接地线不好	(3) 必须用良好的接地线
	(4) 泵中有气泡，流量不稳	(4) 用真空的方法赶除聚集于泵头内的气泡
	(5) 溶剂纯度不高，背景吸收强，透光弱	(5) 选用溶剂或溶液纯度比较高(至少应为分析纯级)，透光性好的溶剂作为流动相
	(6) 检测池污染	(6) 清洗检测池
	(7) 示差折光检测器参比槽漏	(7) 检修或更换池槽
	(8) 用RI检测时，环境温度变化太大	(8) 应采用恒温或温度变化不大的环境作实验
	(9) 样品池或参比池中有气泡	(9) 加大流量赶出气泡，在检测器出口加上限流器以增大池内压(如果检测池耐压的话)
	(10) 检测器光源(灯泡)故障	(10) 更换光源
	(11) 紧固件或连接件渗漏	(11) 拧紧或更换紧固件
	(12) 进样装置部分堵塞	(12) 检修进样器并清洗
	(13) 由泵的冲程引起的规则脉冲	(13) 连接脉冲阻尼装置，使用无脉冲泵
	(14) 隔膜垫漏	(14) 更换隔膜；最好使用进样阀
基线漂移	(1) 溶剂贮槽污染	(1) 清洗贮槽装入新流动相冲洗柱子
	(2) 前次分离样品中的强吸附组分从柱上洗脱	(2) 在分离之前用强流动相从柱中洗除所有的组分，使用溶剂梯度再生柱子
	(3) 由颗粒造成柱入口、进样阀、柱入口的部分堵塞	(3) 清洗进样系统和柱入口过滤片
	(4) 溶剂分层	(4) 采用合适溶剂
	(5) 检测器的温度改变	(5) 检查流量；如果泵的输出随温度变化，应控制温度

续表

故障现象	可能的原因	排除方法
基线漂移	(6) 检测器污染 (7) 柱污染或"流失" (8) 检测器温度变化 (9) 光源故障	(6) 清洗检测器 (7) 再生或更换(如果再生不成功)柱子，使用预柱 (8) 使用稳压器 (9) 更换光源灯
基线噪声大，且漂移	(1) 环境温度变化大 (2) 色谱系统未达平衡 (3) 柱子污染 (4) 示差折光检测器池裂开	(1) 采取恒温措施 (2) 延长色谱系统达到平衡时间 (3) 用大流量极性溶剂冲洗柱子，如仍不能解决问题应更换柱子 (4) 检查更换
基线不规则地漂移	(1) 色谱柱污染变脏 (2) 溶剂纯度差 (3) 泵密封不好 (4) 用RI检测时，两溶剂互溶性不好 (5) 环境温度变化大(指使用RI检测器) (6) 管路漏 (7) 色谱柱没有完全平衡 (8) 溶剂直接吸收了空气中的水分，使RI检测器不稳定	(1) 冲洗柱子，或重装柱或更换新柱子 (2) 更换纯溶剂 (3) 检查输液泵密封或更换密封圈 (4) 使两溶剂能很好地互溶混合，必要时可采取搅拌方式 (5) 应采取恒温措施 (6) 检查管路-并消除泄漏处 (7) 延长冲洗时间，使柱子达到平衡 (8) 阻止溶剂与潮湿空气接触或用干燥剂干燥溶剂
记录仪基线上出现大的尖峰	(1) 检测池内有气泡通过 (2) 实验室内其他电器装置(例如恒温烘箱、其他色谱仪等)的影响	(1) 溶剂脱气并彻底冲洗系统，检查紧固件是否有空气漏入系统 (2) 消除噪音来源，确保装置接地良好，用隔离变压器使仪器绝缘
基线呈阶梯式上升	(1) 记录仪的增益和阻尼控制不当 (2) 记录器或仪器接地不良	(1) 调节增益和阻尼旋钮，修理记录仪 (2) 小心使仪器接地
色谱峰无规则地摆动	检测池内有气泡	排除检测池内的气泡
峰重现性差	(1) 注射器针头太长，样品被部分分流 (2) 进样技术欠佳-表现为峰面积忽大忽小 (3) 管路有泄漏处 (4) 仪器没有充分稳定 (5) 实验条件发生变化 (6) 注射器有堵塞或泄漏现象 (7) 进样速度不一致 (8) 进样阀开关不灵、阀门没有充分打开 (9) 样品溶解度小，进样后有少量在流动相中析出 (10) 流动相流速发生了改变	(1) 选用合适的针头对U6K进样装置以(3.8~5.0) cm为宜 (2) 认真掌握注射器进样技术，使注射器进样重复性误差小于5% (3) 检查并修复 (4) 对仪器再次预热稳定冲洗平衡 (5) 使实验条件(检测器灵敏度、流速、温度等)尽可能一致 (6) 修理或更换注射器 (7) 掌握一样的进样速度 (8) 检查维修进样阀开关 (9) 选用的溶解试样的溶剂应对试样有好的溶解能力且能与流动相互溶的溶剂 (10) 用内标物定期检查流动相流速
峰分裂(一个组分有两个峰)	(1) 样品中可能有异构体 (2) 样品不稳定有部分分解 (3) 进样量大，柱超载 (4) 柱子中有孔隙	(1) 按异构体特征选择分离条件，使两峰达完全分离 (2) 采取措施，防止试样组分的部分分解 (3) 减小进样量 (4) 更换柱子
峰展宽	(1) 进样体积过大 (2) 柱外体积过大 (3) 流动相粘度过高 (4) 保留时间过长 (5) 样品过载	(1) 减少进样体积 (2) 减小柱间连接体积 (3) 增加柱温，采用低粘度流动相 (4) 梯度洗脱时增加强溶剂浓度，或采用梯度洗脱 (5) 稀释样品，或采用小体积样品

四、液相色谱仪的日常维护及应注意事项

（一）液相色谱柱的日常维护

表 6-18 液相色谱中对流动相的要求

(1) 溶剂必须"干净"，在使用前需经过滤板除去颗粒杂质，必要时，在进样口再加一块滤板，以除去可能由泵带来的颗粒
(2) 必须控制吸附色谱中溶剂的含水量，过量水会使吸附剂活性降低，溶质保留值下降
(3) 如需在一定 pH 值下操作，须定期测定流动相的 pH 值，大气中的 CO_2 溶解在流动相内将引起 pH 值的改变，特别是扩散性密闭不严对这种影响可能更大
(4) 软质或半硬质填料的溶胀率随溶剂条件的变化而变化，使用新柱时应先用 25～30 倍柱体积的合适流动相平衡；更换流动相时，如果两种流动相不互溶，需要用过渡溶剂把前一种流动相逐步冲洗除去（例如，2,2,4-三甲基戊烷换成甲醇时，必须用乙醚乙醇或其他溶剂过渡，直到标准物保留值达到稳定状态）
(5) 为延长不易装填、价格昂贵的高效柱寿命，可在进样器和色谱柱之间安装预柱（预柱应有足够的柱容量），对流动相和样品中的颗粒和杂质进行最后的过滤；在填充和连接预柱时，不应有额外造成谱带变宽、分离度下降的死体积，预柱与色谱柱的体积之比应保持为 1：15 至 1：25，以减少谱带变宽

表 6-19 液相色谱柱的日常维护

(1) 每次开机时，流速和柱压要逐渐增加，突然迅速增加，会使柱床受到冲击，引起紊乱，产生空隙
(2) 在进样前使色谱系统充分平衡，是否平衡可由基线加以判断
(3) 在进样前，检查色谱系统的各个接头，通常由此能发现是否有漏液现象，如有漏液，空气会从漏处进入系统引起基线漂移，影响峰高和峰面积的重复性
(4) 不要把接头上得太紧，否则易损坏接头螺纹，引起渗漏
(5) 不要把柱子放在有气流的地方或直接放到阳光下，气流和阳光都会使柱子产生温度梯度造成基线漂移；如果怀疑基线漂移是由温度梯度引起的，可以设法使柱子恒温
(6) 若仅做常规分析，样品种类有限，但分析次数很多，则不妨为每一类常规分析配置一根专用柱，这样有助于延长柱寿命
(7) 如果怀疑样品会污染色谱柱，可以用合适的溶剂（几百毫升）慢慢冲洗柱子过夜，第二天早晨再用流动相重新平衡柱子（约 3 min）
(8) 在固定、更换、贮存等而移动柱子时，动作要轻，不要使其受到敲击，以免柱床因振动产生空隙或通道
(9) 柱要加标签，新旧分开，不要放在温度变化很大的地方
(10) 柱子不用或贮藏时，应封闭并贮存在惰性溶剂中（见表 6-18）

表 6-20 固定相的贮存与禁用溶剂

固定相	硅胶、氧化铝、正相键合相	反相色谱填料	离子交换填料
贮存溶剂	2，2，4-三甲基戊烷	甲醇	水
禁用溶剂	二氯代烷烃、酸、碱性溶剂	—	

（二）柱子的清洗和再生

1. 柱子的清洗

即使样品和流动相已做过前处理，也仍难以完全避免柱子受到污染，因此必须对柱子进行清洗。清洗应定期进行，如果在短期内分析许多样品，则以每日清洗一次为宜，至少也应一周一次，防止有太多的杂质在柱上堆积。

反相柱的常规洗涤办法是：分别取甲醇、三氯甲烷、甲醇-水各 20 倍柱体积［即对于一根 4.6 mm 内径×25 cm 的柱来说，通常是（50～60）ml，而对于 9.4 mm 内径×50 cm 的柱来

脱，通常是(300～600) ml]，使之通过柱子，然后用流动相平衡（通常仍用20倍柱体积），柱一般将恢复正常。如果选择性仍和以前不一样，则表明还有其他杂质留在柱子里，这时应考虑更加严格的清洗：先用20倍柱体积的水，再用相同体积的0.05 mol·L⁻¹硫酸，最后用流动相溶剂，酸洗常能洗下有机溶剂所不能洗下的剩余杂质，在低pH值下做长期（一天或更长）清洗是不适宜的，但50 ml洗液以2 ml·min⁻¹的速度清洗25 min，一般对键合相没有损害。注意，强碱不能用来清洗任何微粒硅胶柱（不论是键合相还是非键合相），因为硅胶骨架会溶解。对于严重污染的反相柱，只能采用再生的方法。

2. 柱头孔隙的处理

拆下不锈钢烧结过滤器后，检查柱床，常可见柱头塌陷，此时先刮掉无规则床层和带色填料，使柱床呈白色并完全水平，再用甲醇作糊状填料匀浆液，将填料匀浆液滴在柱上靠重力从匀浆液中排出甲醇液，重复数次，直到水平，完成了柱的再生。此时，如果柱头孔隙深度小于1 cm，可以采用下述局部重装的办法。否则，柱应当完全重装或更换。

柱入口局部重装时采用的填料可以和柱内原有填料一样，也可以用玻璃珠，粒径大于20 μm的可以用敲打充填法干装。如果粒径小于20 μm则要用合适的溶剂配成匀浆，匀浆逐次加入，每次加入前都要使上一次加入的全部沉降。把孔隙填满后，用一把刮刀将填料刮平，更换柱入口接头，把柱重新接到液相色谱系统中，慢慢地增加流动相流速和系统压力，直到操作上限为止。让相当于10～20倍柱体积的流动相通过柱子，然后逐渐降低柱流速，并使压力降为零，再把柱子卸下来，并卸下入口接头，观察柱的入口。此时孔隙应当减小，但是由于新加入的填料在系统的操作压力下压入柱头，孔隙不可能一次就被全部充满。重复上述局部重装过程，直到柱上加不进更多的填料为止。一旦柱子填充完毕，可加进混合样品，测定柱子的性能是否已经改善。

3. 柱再生

色谱柱使用一段时间后，柱效将会下降，必须进行再生处理。再生处理包括活化（自右向左）和净化（自左向右）两种，硅胶、氧化铝和极性（正相）键合相色谱柱可以采用以下程序再生：

三甲基戊烷或己烷→三氯乙烷→乙酸乙酯→丙酮→乙醇→水采用上述溶剂依次以1ml·min⁻¹的流速通过色谱柱，洗脱量约为20 ml，然后反方向重复上述过程。

反相色谱柱常用甲醇-水或乙腈-水作流动相，有时还可能含有控制pH值的盐、酸或离子型溶质。对硅胶或以硅胶为基质的键合（或离子交换）填料，为避免硅胶溶解，pH值不应超过8.5，再生时将25 ml纯甲醇及25 ml甲醇-氯仿（1∶1）混合液依次通过色谱柱淋洗，然后再用所选的流动相平衡。

离子交换色谱柱的再生方法有两种：

① 先用25 ml蒸馏水通过柱子以除去所有的缓冲盐类，然后采用25 ml甲醇冲洗柱子，以除去由于分配效应而残存在骨架中的杂质，再用25 ml蒸馏水除去不溶于甲醇的残存盐类，最后用缓冲液平衡。

② 先用0.1 mol·L⁻¹柠檬酸洗涤，然后用水洗涤（不要用碱性溶液，以防止硅胶基质溶解），最后用缓冲液平衡。

如果柱头被污染，可以在出口处用输液泵反相压入溶剂，通常选用有一定粘度的溶剂（如甘油-水或水-甲醇），将填料从内慢慢推出少许，停泵，切除柱头已污染的填料，放入烧杯中清洗后，再重新装填，测定柱效至达到要求。

（三）色谱分析中蒸馏水的处理

反相色谱应用越来越广泛，水几乎已成为液相色谱中最常用的溶剂。水中的有机杂质种类和处理方法见表6-21。

表6-21　水中的有机杂质种类和处理方法

杂质种类	来　源	预防方法
菌类	细菌在储存盛水的容器中生长（添加保护剂可避免或抑制细菌，但大多会干扰色谱过程，尤其不利于紫外检测）	（1）使用棕色瓶避光保存水 （2）把水放在冰箱里，可抑制细菌的生长 （3）直接把水和φ=10%（或15%）的有机溶剂（如乙腈或甲醇）混合贮存，这种混合液体可直接用作反相色谱的冲洗剂
制造盛水容器的材料	塑料中的某些组分会扩散进入水里，影响样品操作，污染柱子	采用玻璃或金属容器，玻璃容器中的金属离子也有可能从表面溶解出来，但没有有机杂质污染严重
挥发性有机溶剂	一些有机杂质很难蒸馏除去	让水通过50 cm的C_{18}多孔硅胶柱，有机杂质在柱内保留，由此而去除

参 考 文 献

1　邹汉法，张玉奎，卢佩章．高效液相色谱法．北京：科学出版社，1998，42301
2　王俊德，商振华，郁蕴璐．高效液相色谱法．北京：中国石化出版社，1992．1
3　卢佩章，张玉奎，梁鑫淼．高效液相色谱法及其专家系统．沈阳：辽宁科学技术出版社，1992．1
4　[illegible]．HPLC系统的故障排除．南京：南京大学出版社，1991
5　柯以侃，董慧茹．分析化学手册．第二版．第三分册．光谱分析．北京：化学工业出版社，1998

第七章　毛细管电泳

毛细管电泳(capillary electrophoresis，简称 CE)是 20 世纪 80 年代初迅速发展起来的一种新型分离分析技术，它具有分离效率高、分析速度快、样品及试剂用量少等优点，已被广泛应用到生物、化学、医药、环保、食品等领域，具有很好的应用前景[1~2]。

第一节　毛细管电泳原理

毛细管电泳是离子或荷电粒子以电场为驱动力，在毛细管中按其淌度或/和分配系数的不同进行高效、快速分离的一种电泳新技术。根据分离原理不同，毛细管电泳可分为六种不同分离模式，包括毛细管区带电泳(CZE)、毛细管凝胶电泳(CGE)、毛细管等电聚焦(CIEF)、毛细管等速电泳(CITP)、毛细管胶束电动色谱(MECC)以及毛细管电色谱(CEC)。

一、双电层和 ξ 电势

由固体与液体接触时，固体表面分子离解或/和表面吸附溶液中离子形成双电层。在毛细管电泳中，通常情况下毛细管表面的硅羟基解离带负电，负电荷表面在溶液中积聚相反电荷的对离子，形成双电层。在双电层溶液一侧由两层组成。第一层为吸附层，称为 Stern 层或紧密层。在 Stern 层中与固体表面接触的特性吸附离子是部分脱水的，它可以是异号离子，也可是同号离子，其外面主要是由静电力吸附的水化对离子构成。通过水化离子中心联线构成的面成为 Stern 面。第二层为扩散层，由 Stern 面外的剩余对离子构成，其电荷密度随着远离表面而逐渐与体相溶液的电荷密度接近。在 Stern 面和双电层的游离部分起点的边界层间的电势称为管壁的 ξ 电势，在扩散层内，ξ 电势的值随距离增大按指数衰减，使 ξ 衰减一个指数单位所需的距离称谓双电层的厚度，记作 δ。

二、电泳、淌度和电渗流

电泳是在电场作用下带电粒子在缓冲溶液中的定向迁移。电泳迁移速度 u_{ep} 由下式决定

$$u_{ep}=\mu_{ep}\cdot E \tag{7-1}$$

式中，E 为电场强度，μ_{ep} 为溶质的淌度。

淌度是指溶质在给定缓冲溶液中单位时间间隔和单位场强下移动的距离，在充满自由溶液的毛细管中，一个离子的淌度可以近似表达为

$$\mu_{ep}=\frac{\varepsilon\zeta_i}{4\pi\eta} \tag{7-2}$$

式中，ε 为流体的介电常数；η 为介质的粘度；ζ_i 为离子 i 的 ξ 电势。

这里 ξ 电势特指粒子外"固定"离子剪切面和离得最近的游离离子边界层之间的电势，这种 ξ 电势的大小和粒子表面的电荷密度有关，即对于给定质量的粒子，表面电荷密度越大，ξ 电势也就越大；反之，如果电荷给定，则质量越大，ξ 电势越小。对于非胶体粒子，ξ 电势近似正比于 $Z/M^{2/3}$，其中 M 是相对分子质量，Z 是净电荷。因此，不同离子即可能按照它们表面电荷密度的差异以不同的速率在电介质中移动，达到分离的目的。

电渗流（electroosmotic flow，简称EOF）指的是柱内溶液在外加电场作用下整体朝一个方向运动的现象。在毛细管电泳中，处于扩散层的阳离子，在负电荷表面形成一个圆筒形的带正电区域，在外加电场作用下，以剪切面为分界面，朝阴极与Stern层作相对运动。由于阳离子是溶剂化的，当它们沿剪切面作相对运动时，携带溶剂一齐向阴极移动，便形成电渗流。电渗流的大小常用电渗淌度（μ_{eo}）表示

$$\mu_{eo}=\frac{v_{eo}}{E}=\frac{lL}{t_{eo}V}=\frac{\varepsilon\zeta_w}{4\pi\eta} \tag{7-3}$$

式中，v_{eo} 为EOF速度，E 为电场强度，l 为毛细管进样端至检测窗口的长度，L 为毛细管的总长度，t_{eo} 为电渗流标记物从进样端迁移到检测窗口所需时间，ζ_w 为管壁的 ζ 电势，V 为管两端电压；η 为运行缓冲溶液粘度；ε 为缓冲溶液介电常数。

以电场力驱动产生的电渗流，与高效液相色谱中由泵压产生的液流不同。前者的流型为扁平流型，后者为抛物线状的层流。抛物线状流型在管壁的流速为零，中心流速为平均速度的2倍。扁平流型不会引起样品区带的增宽，这就是毛细管电泳获得高柱效的重要原因之一。

电渗流是毛细管电泳中的基本操作要素，为了优化分离，应加以适当控制。电渗流控制可以通过改变毛细管的表面电荷或缓冲液粘度的方法，表7-1列出了一些具体控制办法。值得注意的是改变管壁表面电荷的条件，一般对被测溶质组分的迁移速度也有影响，如改变pH值。因此常通过改变电渗和溶质组分的迁移来优化分离。

表7-1 电渗流的控制方法[9]

变 量	结 果	说 明
电场强度	正比于电渗流	电场强度降低可能引起分离效率和分辨率降低；电场强度增加，焦耳热增加
缓冲溶液pH值	pH降低，电渗流降低；pH增加，电渗流增加	这是改变电渗流最有效的方法，但可能会引起溶质组分电荷和结构的改变
离子强度或缓冲溶液浓度	离子强度增加，ζ电势降低，电渗流降低	离子强度增加，电流增加，焦耳热增加 低离子强度可能存在样品的吸附问题 如果导电性与样品不同，可能引起峰形畸变 离子强度低，样品装载量小
温度	温度改变1℃，粘度变化约2%～3%	由于温度受仪器控制，容易实现，也比较有效
有机改性剂	改变ζ电势和粘度	变化复杂，其影响最好用实验测定 有可能改变选择性
表面活性剂	改变疏水性或通过离子相互作用吸附在毛细管壁上	阴离子表面活性剂使电渗流增加，阳离子表面活性剂使电渗流降低或逆向 能显著改变选择性
中性亲水聚合物	通过疏水性相互作用吸附在毛细管壁上	通过屏蔽表面电荷或增加粘度来降低电渗流
共价涂渍	化学键合到毛细管壁上	可使用各种修饰剂（亲水或带电的） 涂渍物的稳定性存在问题

三、分离效率与分离度

毛细管电泳的分离效率用理论塔板数（the number of theoretical plates，N）表示，其理论来源于色谱理论。对具有高斯型的毛细管电泳流出色谱峰，N 可按下式求出

$$N=5.54\left(\frac{t_m}{W_{1/2}}\right)^2 \tag{7-4}$$

式中，t_m 为电泳谱图上曲线最高点所对应的时间，即样品的迁移时间；$W_{1/2}$ 为半峰宽。

此外，结合式（7-1）～式（7-4），N 也可用下式表示

$$N=\frac{Vl}{2DL}(\mu_{ep}-\mu_{eo}) \tag{7-5}$$

式中，D 为样品的扩散系数。

式(7-5)表明：使用高电场，可以得到高的分离效率；EOF 速度大，可以得到高的分离效率；扩散系数小的样品，如蛋白质、DNA 等生物大分子，有较高的分离效率。

分离度（resolution，R_s），亦称分辨率，是指将淌度相近的组分分开的能力。它是分离技术中一个重要性能指标，可用(7-6)式表达

$$R_s=\frac{\sqrt{N}}{4}\cdot\frac{\Delta u}{\bar{u}} \tag{7-6}$$

式中，$\Delta u/\bar{u}$ 为相邻组分的相对速度差。

(7-6)式也可写成

$$R_s=\frac{1}{4\sqrt{2}}(\mu_{ep_1}-\mu_{ep_2})\left[\frac{Vl}{DL(\bar{\mu}_{ep}+\mu_{eo})}\right]^{1/2} \tag{7-7}$$

由式(7-7)可以看出：在焦耳热效应影响不显著的前提下，电压的增加有利于分离；如果电渗流的方向与溶质组分迁移的方向相反，那么它的增加有利于分离；当溶质组分迁移与电渗流方向相反而速度相同时，分离度可以无限大，但分离时间将无限长；使分离度增加的关键因素是两组分间的淌度差，这可以通过选择不同的操作模式和不同的缓冲溶液体系来实现。

通常，R_s 可由电泳图上相邻峰的迁移时间和它们的半峰宽按下式计算。

$$R_s=\frac{t_{m_2}-t_{m_1}}{\Delta W_{1/2}/2} \tag{7-8}$$

式中 $\Delta W_{1/2}/2$ 为相邻两峰的平均半峰宽。

四、峰展宽的影响因素[4]

毛细管电泳分离的基础是溶质电迁移速度的差异。电迁移过程中，各种组分区带不仅由于它们的迁移速度的不同而被分离，而且也由于一系列分散因素，如扩散等的作用而不断被增宽。为了能对两个淌度相近的物质很好地分离，了解和控制可能存在的分散因素，使其作用最小是至关重要的。

考虑到各种分散因素的影响，用系统总方差(σ_T^2)来描述所有分散系数对区带展宽的影响，于是

$$\sigma_T^2=\sigma_{Dif}^2+\sigma_{Inj}^2+\sigma_{Temp}^2+\sigma_{Ads}^2+\sigma_{Ele}^2+\sigma_{Det}^2+\sigma_{oth}^2 \tag{7-9}$$

右边各项角标分别表示不同因素的影响 Dif—扩散、Inj—进样、Temp—温度、Ads—吸附、Ele—电分散、Det—检测、oth—其他。其中，前 5 项是方法所固有的分散，不可能完全消除，但只要仪器设计合理和条件选择得当，可以控制到最小，达到最高的分离效率。

1．扩散

扩散引起的区带方差是由溶质的迁移时间和扩散系数决定的。迁移时间受很多分离参数的影响，如外加电压、毛细管长度、缓冲溶液浓度等。扩散系数是溶质本身的一种物理特征，它随分子量的增加而降低，对于球形大分子，扩散系数与分子量的立方根成反比，所以，大分子比小分子能获得更高的分离效率。由于电渗流的扁平流型和毛细管壁的抗对流性质，溶

质的径向扩散并不重要，对区带展宽起决定性作用的是溶质的纵向扩散，扩散速度与溶质的浓度差成正比。在不考虑其他因素对区带的分散时，扩散展宽与溶质在毛细管中停留时间成正比，所以提高电压可减小扩散展开。

2. 进样

进样方差与样品区带长度和初始形状有关。如果样品区带长度超过扩散引起的区带展宽，分离效率和分离度都将受到损失，通常，在实际操作中，样品塞长度一般限制在毛细管长度的1%左右。此外，无论用何种进样方法，都会产生"额外进样"（所谓"零进样"），即当毛细管插入样品溶液，进样时间为零时所进入毛细管中的样品。零进样的原因可能是由于样品溶液和毛细管内部操作缓冲溶液间存在粘度、表面张力和/或密度差异而引起对流，或由于溶质扩散而进入毛细管中。对这种额外进样应加以控制。

3. 温度效应

电流通过毛细管内缓冲溶液时产生焦耳热，焦耳热通过管壁向周围环境逸散时，在毛细管内形成径向温度梯度。径向温度梯度会导致缓冲溶液的径向粘度梯度，从而产生离子迁移速度的径向不均匀分布，破坏区带的扁平流型，使区带展宽、分离效率降低。

4. 吸附效应

溶质与管壁的相互作用主要表现为管壁对溶质的吸附。管壁表面的硅羟基具有阳离子交换性质，它在pH≥3的水溶液中解离使表面带负电荷，负电荷表面与正电荷溶质的静电引力作用产生强烈的吸附效应。除此之外，还有疏水相互作用。大多数蛋白质（约75%）的pI≥4，在通常条件下带正电。因此，管壁对蛋白质的吸附成为毛细管电泳分离中一个突出的问题。由于吸附，使区带展宽，导致峰拖尾或变形，甚至完全消失。

降低毛细管内壁对溶质的吸附作用已得到广泛的研究，最常用方法有以下三种：

（1）极端pH值条件　即在低pH（pH＝2～3）或高pH（pH>9）的缓冲溶液中进行分离。在低pH下，硅羟基解离受到抑制，吸附降低，在pH高值下（pH>pI），蛋白质带负电，与管壁相互排斥，吸附受到抑制，但pH与pI差异过大会引起蛋白质结构变化甚至水解。

（2）加入中性盐或两性离子化合物　加入中性盐（K_2SO_4）或提高缓冲溶液浓度，可以降低表面有效电荷、抑制吸附作用。但离子强度增加，导致电渗流降低，溶质在毛细管中的停留时间增加，电流增大，产生过量焦耳热。用两性离子化合物，如 $(CH_3)_3N^+CH_2CH_2CH_2SO_3^-$（TMAPS）和 $(CH_3)_3N^+CH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$（TMABS）代替中性盐，能缓解上述矛盾，是抑制蛋白质吸附的有效方法。

（3）毛细管内壁涂层　柱内表面涂层方法分为物理吸附和化学键合两种类型，前者涂层稳定性和重现性较差，但涂渍方法简单，制作容易，后者利用有机硅烷的亲水基团与硅羟基化学键合，然后再用不同的物质去活，得到稳定性较好的涂层，目前应用最多的是化学键合涂层，常用于毛细管内壁涂层的物质有甲基纤维素、聚丙烯酰胺、环氧二醇、聚乙二醇、聚甲基硅氧烷等。抑制吸附的方法在一定程度上也会抑制或改变电渗流，在实际样品分析中应根据具体情况进行综合考虑。

5. 层流现象

当样品区带中的缓冲溶液浓度和毛细管中其他部分的浓度不同时，会导致样品区带与毛细管中其他部分场强不等，由此产生电渗流的差异，引起区带之间发生层流的现象，使区带增宽、变形，与此相似，样品溶质的电泳淌度与背景电解质的电泳淌度存在差异时，会产生电扩散现象，使谱带变宽。因此，缓冲溶液的选择应尽可能使样品和背景电解质的浓度以及

电泳淌度相近，以减少区带展宽。

6. 检测窗口宽度

毛细管电泳一般采用柱上检测，混合组分中的各组分由于电迁移速度不同，在毛细管电泳中形成各自的区带，并逐个依次通过检测窗口，反映在电泳谱图上是以迁移时间和峰宽为特征的电泳峰。它是以检测系统的响应作为时间函数得到的，因此峰宽或由此代表的区带宽度称为时间宽度（WT）。由于各个区带的迁移速度不同，即使实际长度相等的区带通过检测窗口所需的时间也不相同，产生时间宽度不等的峰。如果不经过校正，将会对柱效计算和定量分析带来误差。

7. 径向速度梯度

如果毛细管中因某种原因产生径向压力梯度，在毛细管截面上就会出现抛物线型层流，与色谱方法中类似，将引起区带展宽。

第二节　毛细管电泳分离模式

一、毛细管区带电泳[1~4]

毛细管区带电泳（capillary zone electrophoresis，简称CZE）也称为毛细管自由溶液区带电泳，是毛细管电泳中最基本也是应用最广的一种操作模式。在该模式中，毛细管内仅存在缓冲溶液，溶质基于各自迁移率不同而进行分离。组分在毛细管区带电泳中的流出顺序与组分的荷质比有关，不同荷质比的组分具有不同的迁移速度。除溶质的性质决定迁移外，其他操作参数的选择也会对分离度产生影响。

（一）操作电压

电压是影响柱效、分离度和分析时间的重要因素。应该使用尽可能高的电压以达到最大柱效、最高分离度和最短分析时间。实验证明在焦耳热可以忽略的条件下，上述参数与电压存在近似的线形关系，但在不能有效驱散焦耳热的情况下，柱效和分离度将显著降低。在选择最佳电压时，可用欧姆定律作图，即不进样品只改变电压，作电压-电流曲线，观察其偏离线性的程度。一般来说，偏离线性段的电压不适于作为理想的操作电压。

（二）缓冲溶液的种类

毛细管电泳在缓冲溶液中进行，缓冲溶液的选择直接影响粒子的迁移和最后的分离，甚至影响到进样过程。缓冲溶液的选择通常遵循下述要求：① 在所选择的pH范围内有很好的缓冲容量；② 对检测波长的吸收低；③ 自身淌度低，即分子大而电荷小，以减少电流的产生；④ 缓冲溶液的配置必须使用高纯蒸馏水和试剂。表7-2中列出了用于毛细管电泳的缓冲溶液。

（三）缓冲溶液的浓度

缓冲溶液浓度是影响分离效果的一个非常重要的因素，其作用比较复杂。大多数情况下，电渗流速度随缓冲溶液浓度的增加而降低，溶质在毛细管中的迁移速度下降，迁移时间延长，但对内径较大的柱子有可能由于焦耳热过大，偏离一般规律。缓冲溶液的浓度对柱效的影响比较复杂，因为要同时考虑扩散和粘度的影响。一般来说，对于迁移时间较短的组分，其柱效随浓度的增大而明显增加，而对于后出峰的组分则没有明显的相关性。此外，增加缓冲溶液的浓度，可改善分离度，但会使导电的离子数增大，在相同场强下毛细管的电流值增大，焦耳热增加。因此，毛细管电泳中，应对缓冲溶液的浓度进行优化。

表 7-2 毛细管电泳常用的缓冲溶液

名称	pK_a	名称	pK_a
磷酸盐	2.12(pK_{a_1}) 7.21(pK_{a_2}) 12.32(pK_{a_3})	2-[双(2-羟乙基)氨基]乙磺酸(BES) 3-(N-吗啉)丙烷磺酸(MOPS) N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙烷磺酸(TES)	7.15 7.20 7.50
柠檬酸盐	3.06(pK_{a_1}) 4.74(pK_{a_2}) 5.40(pK_{a_3})	N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES)	7.55
甲酸盐	3.75	N-2-羟乙基哌嗪-N'-3-丙烷磺酸 乙酰胺	7.90 8.05
琥珀酸盐	4.19(pK_{a_1}) 5.57(pK_{a_2})	N-三(羟甲基)甲基甘氨酸	8.15
乙酸盐	4.75	甘氨酰胺	8.20
2-[N-吗啉]-乙烷磺酸(MES)	6.13	甘氨酰甘氨酸	8.25
N-[2-乙酰胺基]-2-亚氨二乙酸(ADA)	6.60	三(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)	8.30
双-三(羟甲基)氨基丙烷(BIS-TRIS丙烷)	6.80	N,N'-双(2-羟乙基)甘氨酸(BICINE)	8.35
2-[(2-氨基-2-氧乙基)氨基]乙烷磺酸(ACES)	6.90	吗啉	8.49
		硼酸盐	9.24
3-[N-吗啉]-丙烷磺酸(MOPSO)	6.90	2-[N-环己氨基]乙烷磺酸(CHES)	9.55
咪唑	7.00	3-(环己氨基)-1-丙烷磺酸(CAPS)	10.4

（四）缓冲溶液的 pH 值

缓冲溶液的 pH 值强烈影响熔融毛细管柱内表面特征，μ_{eo}-pH 曲线呈 S 形，在 pH=4～6 范围内，硅羟基的电离对 pH 非常敏感，随 pH 值的增加迅速增大；在高 pH 值下，硅羟基的电离趋于饱和，电渗流达到最大且变化平缓；而在低 pH 值，电离受到抑制，电渗流接近零。电渗流对 pH 值的强依赖性导致样品迁移时间对 pH 值的强依赖性。因此，缓冲溶液的 pH 值成为影响迁移时间重现性的关键参数。对于有等电点的溶质，pH 值的变化可改变其电性。因此，在复杂组分体系中，即使它们的 pI 值相近，通过 pH 值优化也能获得成功分离。此外，在碱性条件下，改变 pH 值还可能起到缓解管壁吸附的作用，即如果缓冲液的 pH 值大于被测溶质的等电点，样品带负电，可与管壁表面硅羟基产生库仑排斥作用，从而避免吸附。

（五）添加剂

添加剂是毛细管电泳中一个十分重要的控制因素。表 7-3 列出了毛细管电泳中常用添加剂及其用途。

表 7-3 毛细管电泳中常用的添加剂

添加剂类型	实例	用途
表面活性剂	十二烷基磺酸钠(SDS) 十六烷基三甲基季铵溴(CATH) 聚氧乙烯基山梨糖醇酐(TWEEN)	改变电渗流，溶解疏水溶质，离子对试剂，在临界胶束浓度以上用于 MEKC
两性物质	三羟基甲基氨基甲烷(Tris) 2-[吗啉]乙烷磺酸(MES) 3-[吗啉]丙烷磺酸(MOPS)	增加离子强度而不增加电导，影响蛋白质的迁移性
线性亲水聚合物	甲基纤维素 聚丙烯酰胺 聚乙二醇(PEG) 聚乙烯醇(PVC)	减少电渗流，在低浓度时减少样品的吸附，在高浓度下用于毛细管凝胶电泳或毛细管筛分电泳
有机添加剂	甲醇 乙腈 三氟乙酸酐(TFA)	改变电渗(通常减少)，改变选择性(在电动色谱或手性拆分中)

续表

添加剂类型	实　例	用　途
手性选择剂	环糊精 冠　醚 胆汁盐	手性分离；使疏水溶质溶解
金属离子	K^+、Na^+、Cu^{2+}	在电动色谱和凝胶电泳中改变选择性
氢键型可溶性试剂	尿　素	使毛细管凝胶电泳中的双链DNA变性，溶解蛋白质；在电动色谱中改变选择性
络合试剂	硼酸盐	用于糖和儿茶酚的分离
季铵盐	二氨基丙烷	离子对试剂；电渗反向剂

（六）温度

在毛细管电泳中，温度对迁移时间的影响主要是通过粘度体现。柱温升高，溶液粘度降低，电渗流增大，迁移时间缩短。在压力进样时，增加温度引起的粘度减小会导致进样量增大。在电迁移进样中，由于离子淌度随温度升高而增大，毛细管电流增大，也会导致进样体积的增大。此外，柱温的变化还会引起生物大分子的结构和生物特征变化，影响样品溶质在缓冲溶液中参与的化学反应平衡，改变缓冲溶液pH值等。因此，毛细管电泳中柱温的控制是十分必要的。

毛细管区带电泳操作要点可以概括如下：① 毛细管以恒温为宜，以保证迁移时间的重现性；② 所有样品组分均要溶于缓冲溶液中；③ 在很多情况下要采用涂渍柱或不同的缓冲溶液添加剂抑制管壁吸附或其他相互作用；④ 先根据欧姆定律作电压-电流曲线，以选择较佳操作电压；⑤ 用缓冲溶液组成对淌度作图以选择最佳的缓冲溶液体系；⑥ 经常更换缓冲溶液以避免因缓冲液消耗引起的淌度和电渗的变化；⑦ 样品和缓冲液贮瓶均要加盖，以避免挥发；⑧ 控制样品溶液的离子强度，以防止样品母液的影响；⑨ 如采用压力进样，应确保所配样品溶液有相同的粘度；⑩ 可加入内标，来提高定性定量精度；⑪ 注意保证未涂渍毛细管有一个干净、重复性好的内壁；⑫ 必须使缓冲溶液和管壁间建立平衡以提高操作的重现性。

毛细管区带电泳是电泳中应用最广泛的分离模式，能用于各种具有不同迁移率的组分的分离，分子量范围可以从几十的小分子到几十万的生物大分子，主要应用包括以下几个方面：蛋白质和肽的分离；肽谱和肽纯度分析；合成短链核苷酸的分析；各种可电离有机化合物（包括药物、药物中间体、临床样品、化工原料、中间体、环境样品、食品及添加剂等）的分析；可电离手性化合物的分离分析；小分子离子的分离分析等。

二、胶束电动毛细管色谱

（一）基本原理

胶束电动毛细管色谱[9-16]（micellar electrokinetic capillary chromatography，简称MECC）是在毛细管电泳缓冲溶液中加入表面活性剂，当溶液中表面活性剂浓度超过形成胶束的极限浓度即临界胶束浓度CMC时，表面活性剂分子之间的疏水基团聚集在一起形成胶束，溶质基于在水相和胶束相间分配系数的不同而得到分离。

在MECC体系中存在两相，一相是带电的离子胶束，它具有与周围介质不同的电泳淌度，并且可以与溶质相互作用；另一相是导电的水溶液相，是分离载体的溶液。在电场作用下，液相溶液由EOF驱动流向阴极，胶束依其电荷性质不同移动方向不同。对于常用的十二烷基磺

酸钠（SDS）由于其外壳带很大的负电荷，本应向阳极迁移，但在通常情况下，电渗流的速度大于胶束的迁移速度，最终使得胶束以较低的速度向阴极移动（为有别于色谱的固定相，这种移动的固定相被称为准固定相）。中性溶质基于色谱分离机制，在流动相和准固定相间进行分配，疏水性较强的溶质与胶束作用较强，相对疏水性较弱的溶质迁移速度慢。未结合的溶质随电渗流流出。因此，中性溶质按其疏水性不同，在两相间分配系数的不同而得到分离。溶质的迁移速度取决于它在两相间的分配系数。MECC 也可以分离离子，甚至是淌度相同的离子或可电离化合物。表 7-4 列出了 MECC 的基本参数及计算方法。

表 7-4 MECC 的基本参数及计算方法

参　数	公　式	备　注
迁移时间窗口	$t_{mc}-t_0$ 或 t_{mc}/t_0 t_0——完全溶于缓冲相的中性溶质的迁移时间； t_{mc}——完全溶于胶束的溶质迁移时间	表示洗脱范围的大小 扩展迁移时间窗口的方法： ① 改变胶束迁移速度 ② 改变电渗流速度
容量因子	$k'=n_{mc}/n_{aq}=\frac{t_r-t_0}{t_0(1-t_r/t_{mc})}$ n_{mc}——样品进入胶束的量； n_{aq}——样品在水相中的量； t_r——中性溶质的保留时间	容量因子反映了溶质与胶束的作用程度 k'增大，洗脱迁移时间增长，合适的 k' 值在 1~5 之间
分离因子	$\alpha=k_2'/k_1'$ k_1'——组分 1 的容量因子； k_2'——组分 2 的容量因子	表示两组分间分配系数的差异，值一般在 0.5~10 之间 影响因素有：温度、表面活性剂的类型、胶束的修饰（如采用混合胶束）、水相组成（如改变 pH）、水相修饰（如加入不同的添加剂）
分离度	$R_s=\frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\left(\frac{k_2'}{1+k_2'}\right)\left(\frac{1-t_0/t_{mc}}{1+(t_0/t_{mc})k_1'}\right)$ $k'_{opt}=(t_{mc}/t_0)^{1/2}$	增加 t_{mc}/t_0 有利于提高柱效 MECC 的最佳 k' 依赖于 t_0、t_{mc}，并非 k' 越大，分离度越高

表面活性剂在 MECC 中起到至关重要的作用。它是一种双亲化合物，由亲水基和疏水基两部分组成。由于表面活性剂分子的疏水基相当长，当它在水中的浓度超过临界胶束浓度时，分子的长链烃基会通过分子间的引力相互缔合在一起，而亲水基则朝向水中，形成胶束。随表面活性剂浓度增加，单体的浓度和每个胶束中的表面活性剂分子数（胶束聚集数）基本不变，但胶束数增加。

（二）胶束的特征

MECC 中使用的胶束必须符合以下几点要求：

① 在溶液中形成的胶束足够稳定，且与溶质的缔合速度快。

② 表面活性剂 CMC 不宜太高，形成的胶束必须是均匀、透明的液体，以便能用光学检测器进行在柱检测。

③ 胶束的粘度要小，以保证有足够大的柱效。

根据表面活性剂结构不同，可分为阴离子型、阳离子型、两性离子型和非离子型。表7-5列出了常用表面活性剂的结构、临界胶束浓度和聚集数。

在选择 MECC 的胶束种类时，可以参考以下几点：

① 对大多数中性溶质，SDS 具有广泛适用性。

② 对极性溶质，含不同极性基团的表面活性剂表现出不同的选择性，甚至改变出峰顺序。

③ 对易被管壁吸附的大分子的分离，可以选择阳离子胶束体系，但应注意，如果 EOF 方

向反转，必须切换电极极性。

表 7-5 常用表面活性剂的结构、临界胶束浓度和聚集数

表面活性剂	化学式	CMC/mol·L⁻¹	聚集数
阴离子型			
十二烷基硫酸钠(SDS)	$C_{12}H_{25}OSO_3Na$	8.1×10^{-3}	62
十四烷基硫酸钠	$C_{14}H_{29}OSO_3Na$	2.4×10^{-3}	
十二烷基磺酸钠	$C_{12}H_{25}SO_3Na$	9.7×10^{-3}	54
辛烷基硫酸钠(SOS)	$C_8H_{17}OSO_3Na$	1.4×10^{-1}	20
阳离子型			
十二烷基三甲基溴化铵(DTAB)	$C_{12}H_{25}N(CH_3)_3Br$	1.6×10^{-2}	50
十二烷基三甲基氯化铵(DTAC)	$C_{12}H_{25}N(CH_3)_3Cl$	—	—
十四烷基三甲基溴化铵(TTAB)	$C_{14}H_{29}N(CH_3)_3Br$	2.1×10^{-3}	75
十四烷基三甲基氯化铵(TTAC)	$C_{14}H_{29}N(CH_3)_3Cl$	—	—
十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)	$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$	9.2×10^{-4}	78
十六烷基三甲基氯化铵(CTAC)	$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Cl$	—	—
非离子型	—	—	78
辛基苯基聚氧乙烯醚(Triton X-100)	$(CH_3)_3CCH_2C(CH_3)_2C_6H_4O(CH_2CH_2O)_nOH$	0.2	130
胆酸盐	—	6.4	14
脱氧胆酸盐(SDC)	—		[illegible]

④ 对离子溶质的分离，疏水性和电荷都影响分配系数，电荷极性不同的胶束产生完全不同的选择性，所以要选择与溶质电荷相反的胶束体系，才能产生强的相互作用而进入胶束。

⑤ 对强疏水性溶质，可选用极性强的胶束体系，如胆汁盐，在高浓度有机溶剂中柱效降低不明显，对疏水化合物特别有效。

⑥ 对于手性化合物的拆分，则需用手性胶束或手性化合物的混合胶束。

此外，有些胶束具有独特的选择性，如全氟化的烷烃链的表面活性剂对氟的化合物表现出很强的选择性。

(三) 影响分离的因素

在 MECC 中，由于引入了分配机理，柱效的影响因素除了纵向扩散外，准固定相的性质、传质阻力的大小以及体系温度对柱效均有较大的影响。影响 MECC 分离的因素包括以下几方面：

1. 表面活性剂种类

不同表面活性剂由于其物理化学性质不同，所形成的胶束的性质(如电荷、CMC、胶束聚集数及几何形状等)不同，因此对溶质的增溶能力不同，从而导致分离选择性的变化。

2. 表面活性剂浓度

表面活性剂胶束作为准固定相，其浓度对分离有很大的影响。随表面活性剂的浓度增加，胶束的数目增加，胶束相的体积增加，相比增大，减少了胶束多分散性引起的区带展宽，也会使柱效增加。但表面活性剂浓度太大，一方面可能会使溶质保留时间太长，导致纵向分子扩散增加，另一方面焦耳热增大，热扩散增加，导致柱效降低。

3. 缓冲溶液

选择缓冲溶液时应考虑其适用的 pH 范围、缓冲溶液的组成与表面活性剂及样品的匹配性，并要求在紫外检测波长下无吸收。另外，缓冲溶液的组成和浓度对分离选择性有一定的影响。缓冲溶液浓度对表面活性剂在水中的溶解度也有影响。MECC 采用的缓冲溶液一般为

无机钠盐类，最常用的为磷酸盐-硼砂缓冲溶液体系，pH 范围在 6～9 之间。

4．有机溶剂及其他添加剂

MECC 中改变选择性最方便有效的方法是在缓冲溶液中加入有机溶剂，形成有机溶剂-水组成的混合溶剂体系，常用的有机溶剂有甲醇、乙醇、乙腈和异丙醇等。不同种类不同含量的有机溶剂对分离有不同的影响，不仅影响流动相的性质，而且会影响准固定相以及毛细管壁的性质。除有机溶剂外，其他物质，如四烷基季铵、尿素、环糊精、长链醇、金属离子及金属络合物等，也能作为添加剂，用于改变分离的选择性。

此外，实验参数，如电压、毛细管内径及长度以及柱温等，对分离也有影响。

（四）方法建立

为方便读者快速建立正确的 MECC 方法，图 7-1 给出了 MECC 发展方法的一般途径。

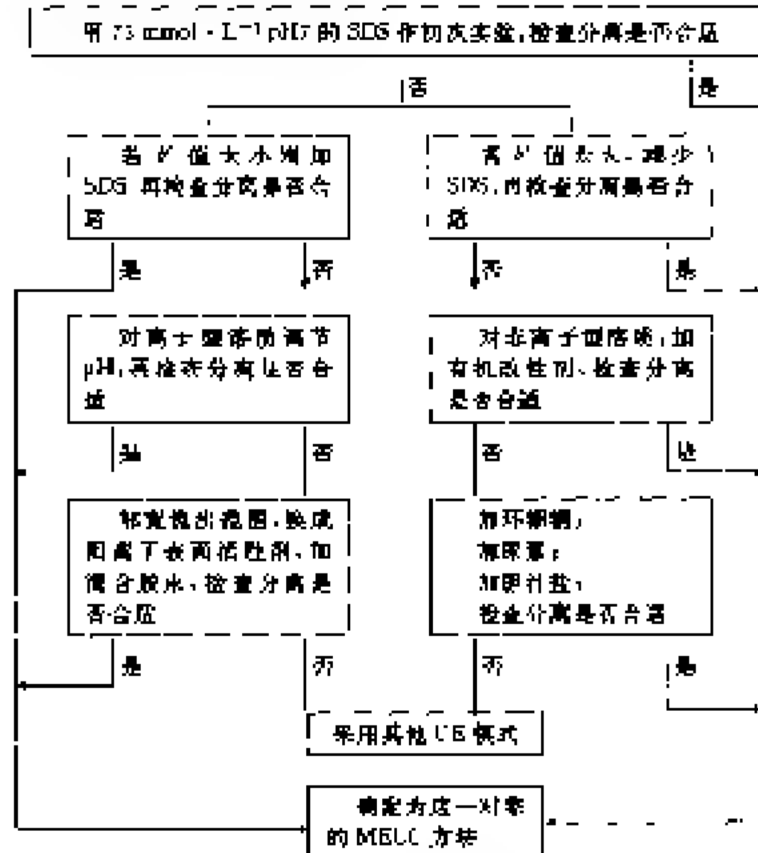


图 7-1　MECC 发展方法的一般途径

MECC 作为毛细管电泳与胶束增溶色谱相结合的分离技术，使毛细管电泳不仅能用于带电物质的分离，也能用于电中性物质的分离，拓宽了毛细管电泳的应用范围，目前已成功地用于生物、药物、环境、化工、食品等领域样品的分离分析，如氨基酸、小肽、维生素、各种药物及中间体、有机化合物和环境污染等的分离分析，特别是 MECC 采用手性分配相，可用于手性化合物的分离。

三、毛细管凝胶电泳

毛细管凝胶电泳（capillary gel electrophoresis，CGE）是毛细管电泳的重要模式之一，它综合了毛细管电泳和平板凝胶电泳的优点，成为当今分离度较高的一种电泳分离技术。

毛细管凝胶电泳是以凝胶或聚合物网络为分离介质，基于被测组分的质荷比和分子体积

不同而进行分离。对质荷比相同而分子大小不同的溶质，如 DNA 和 SDS-蛋白质主要是基于溶质的分子体积不同而分离。由于凝胶的分子筛作用，溶质在电泳迁移中受阻碍，分子越大，阻碍越大，迁移越慢。常用安格斯通（Ogston）模型和爬行（Reptation）模型解释大分子在聚合物网络中的迁移行为。表 7-6 列出了这两种模型的基本原理及其计算方法。

表 7-6　CGE 安格斯通模型和爬行模型

模 型	原 理	公 式	备 注
安格斯通模型	假设基质由相互连接的无规网络组成，迁移的溶质被看成一个不变形的球形粒子 较小分子因有更多的孔隙，可以利用迁移速度快，先到达检测器	$\mu=\mu_0\exp[-CH(R_g+r)^2]$ $\mu=\mu_0\exp\left[-\frac{1}{4}\pi\left(\frac{R_g+r}{\xi}\right)^2\right]$ 式中，μ_0 为溶质在自由溶液中的电泳淌度；H 为常数；C 为高聚物网络浓度；ξ 为高聚物网络平均孔径；R_g 为旋回半径；r 为网络纤维厚度	未考虑电场强度对 R_g 的影响，只适于低场强的场合 当 $R_g>\xi$ 时，此模型不适用
爬行模型	假设溶质像线型链在给定网络中运动，用固定障碍来描述网络，溶质不能进入障碍中，只能像蛇一样在其间爬行	低电场：$\mu\propto\frac{1}{n}$ 高电场：$\mu\approx K\left(\frac{1}{n}-bE\right)$ 式中，n 为分析物重复单元；K 为常数；E 为场强；b 为与迁移分子电荷和稳定性的函数	低电场下 μ 与溶质的质量成反比 高电场下溶质拉伸，当场强或分子变大时，μ 对分子大小的依赖关系减弱

CGE 中常用的聚合物可分为凝胶和线型聚合物溶液两大类。凝胶又可分为共价交联型和氢键型，CGE 中常用的凝胶是交联聚丙烯酰胺，而氢键型凝胶如琼脂使用不多。CGE 中用水溶线型聚合物溶液代替凝胶，常称为无胶筛分。常用的线型聚合物有聚丙烯酰胺、羟烷基纤维素、聚乙烯醇和葡聚糖等。

交联聚丙烯酰胺凝胶毛细管柱的制备包括以下步骤：① 毛细管内表面预处理；② 丙烯酰胺聚合溶液的配制；③ 聚合物溶液导入毛细管中并发生聚合。在毛细管中聚合常常产生气泡，消除气泡的方法主要有：在加压或减压条件下聚合；内表面预处理或不处理；逆向电泳法；加入消泡剂或变性剂；采用前沿聚合、光引发聚合或放射性引发聚合等方法。

交联聚丙烯酰胺是一种广泛应用的凝胶基质，是单体丙烯酰胺和交联共聚单体 N,N-亚甲基双丙烯酰胺的聚合交联而形成的三维网状多孔结构，透明且不溶于水，化学性质稳定，呈电中性，无吸附作用，机械强度好，有韧性。在 CE 中具有抗对流、减小溶质扩散，阻挡毛细管壁对溶质的吸附和消除电渗流等作用。此外，它的三维多孔结构还有分子筛效应，是一种性能优良的筛分介质。毛细管聚丙烯酰胺的柱效可以达到每米几百万塔板数，是分离技术中所能达到的最高柱效。分离度也达到了可以分辨 DNA 片段单碱基的能力。凝胶溶液中单体和共聚单体的溶液，以及聚合程度和交联度决定凝胶的浓度、粘度、弹性和机械强度。凝胶浓度可有两种表示方法，丙烯酰胺和亚甲基双丙烯酰胺两单体的总百分浓度 T 和代表交联剂的量 C，可以分别用以下公式来描述

$$T=\frac{a+b}{m}\times100\% \tag{7-10}$$

$$C=\frac{b}{a+b}\times100\% \tag{7-11}$$

式中 a——丙烯酰胺的量，g；

b——亚甲基双丙烯酰胺的量，g；

m——缓冲溶液的体积，mL。

在毛细管凝胶电泳中，以线型聚合物溶液替代交联凝胶是一种方便有效的方法。与交联凝胶相比，线型聚合物溶液制备简单，使用方便。一般将预先聚合好的聚合物溶解在缓冲溶液中，采用静力学方法装入毛细管中，线型聚合物的分子筛效应来自长链聚合物分子在溶液中的物理缠绕，线型聚合物溶液不易产生气泡，且比交联聚合物更稳定，但分辨率一般不如交联聚丙烯酰胺。

影响凝胶毛细管电泳分离的因素很多，有毛细管尺寸、凝胶浓度、电场强度、进样、柱重现性及寿命等，在实际应用中都应加以考虑。目前，凝胶毛细管电泳主要应用于分子生物学和蛋白质化学的各个方面，如核苷酸纯度分析、基因治疗中特征基因的分析、PCR产物分析、DNA法检、双螺旋DNA限制性片段分析以及大然或SDS络合的蛋白质分离分析等。此外，还可用于其他带电物质的分离，并可通过加入添加剂（如手性添加剂、离子对试剂、络合剂等）改变分离的选择性。

四、毛细管等电聚焦

毛细管等电聚焦（capillary isoelectric focusing，简称CIEF）是一种在毛细管内基于物质的等电点不同而进行分离的电泳技术。它不仅可以实现样品的浓缩，而且具有极高的分辨率，通常可以分离等电点差异小于0.01pH单位的相邻蛋白质，在蛋白质和肽的分离分析上有很好的应用前景。

在毛细管等电聚焦中，采用两性电解质混合物作为载体电解质，当在用溶质和两性电解质混合溶液充满的毛细管两端加电场时，带电的两性离子和蛋白质以不同的速度迁移通过介质，带正电的向负极迁移，带负电的向正极迁移，当它们迁移到pH=pI的区带时，静电荷为零，不再迁移，这个过程称为等电聚焦。如果已聚焦的蛋白质分子扩散入pH高于或低于pI的区域，则在电场作用下会再迁移到聚焦区带，这一现象称为区带自锐化效应，它使得聚焦蛋白区带保持很窄。当完成等电聚焦达到稳定状态时，系统电流为零。通过调节两性电解质溶液来实现，可以使已聚焦的区带移动从而被检测。

在毛细管等电聚焦中通常用两个刚刚可以分开的邻近聚焦区带的pI差来表示分辨率。实验中一般通过改变电场强度和pH梯度来改变分辨率：增加电场强度可提高分辨率，但同时要考虑焦耳热产生对流及蛋白质变性；pH梯度越小，分辨率越高；样品的扩散系数越小，分辨率越高。

在毛细管等电聚焦中采用的两性电解质一般为多氨基多羧基化合物，通常满足以下条件：在等电点处有足够的缓冲能力和电导；分子量小；化学组成不同于被分离物质，不干扰测定；不与被分析物质发生反应或使之变性。

在毛细管中进行等电聚焦，一方面需减少电渗流的影响，另一方面还要找到一个稳定的pH梯度，防止对流和已分离区带的再混合。此外，还要防止蛋白质在毛细管中沉淀，这可以通过缩短聚焦时间、降低聚焦电压、降低蛋白质浓度或在聚焦前，在样品和两性电解质溶液的混合物中加添加剂等方法来解决。

目前，毛细管等电聚焦已成功地用于测定蛋白质的pI值、蛋白质异构体的分离和其他方法难以分离的蛋白质的分离分析中。

五、毛细管等速电泳

毛细管等速电泳（capillary isotachophoresis，简称CITP）是一种不连续介质毛细管电泳技术，它是指在毛细管电泳达到平衡后，各区带相随迁移，分成清晰的界面以等速移动。

在毛细管等速电泳中，使用两个缓冲溶液系统，一种为前导电解质，充满整个毛细管柱，另一种为尾随电解质，置于一端的电泳槽中，前者的淌度高于样品组分，后者的淌度则低于样品组分，被分离的组分按其不同的淌度夹在中间，以同一速度运动，从而实现分离。此外，毛细管等速电泳还具有区带锐化和区带浓缩的特点。

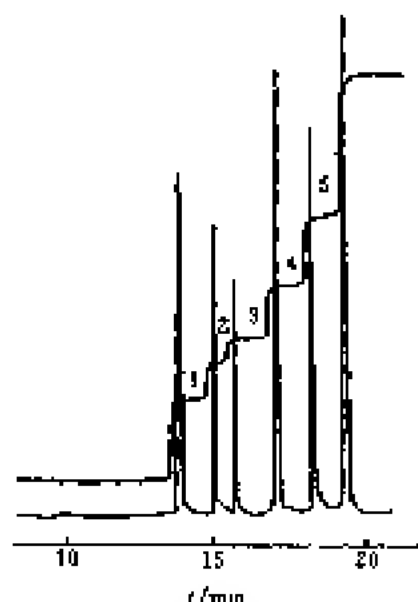


图7-2　有机酸阴离子的等速电泳分离

CITP条件：前导电解质，0.01 mol·L⁻¹ HCl，β-丙氨酸，0.2% Triton X-100，pH3.0；终末电解质，0.01mol·L⁻¹己酸；毛细管，0.5 mm i.d.×70 cm；电流，100 μA；温度，30℃；样品，500 mg·L⁻¹有机酸钠盐混合标样7 μl

色谱峰：1—酒石酸根；2—柠檬酸根；3—乳酸根；4—琥珀酸根；5—乙酸根

为达到等速电泳分离，必须满足以下两个特殊条件：

① 特殊的电解质系统，即要具有一定pH缓冲能力的前导电解质和尾随电解质。这两种电解质构成的不连续的电泳介质环境是等速电泳的首要条件。

② 背景电流要小到足以克服区带电泳效应。

毛细管等速电泳分离所需的毛细管必须经过处理以消除电渗流的影响。在进样时，样品被挤在前导和尾随电解质中间，以分离阴离子为例，在紧靠阴极的地方是具有较高电泳淌度的阴离子溶液（如氯离子），在阳极是电泳淌度较低的阴离子（如庚酸盐），这两种电解质推动阴离子样品分离开，在等速电泳进行的结尾，样品组分被分开，而且各离子区带不会脱开。当离子组分迁移到检测器（通常为电导检测器）时，由于迁移阻力增加，或因焦耳热的产生引起温度的上升，所以输出结果为梯形的谱图见图7-2。阶长或面积用于定量，阶高用于定性。

毛细管等速电泳可用于各种离子，包括无机离子、有机离子、核苷酸、氨基酸、蛋白质等的分离分析。近年来，随毛细管电泳技术的发展，它的应用正逐渐被毛细管区带电泳所取代。由于它的区带自锐化效应和强的浓缩效应，通常被用来与其他电泳模式联用，实现样品的柱上浓缩。

六、毛细管电色谱

毛细管电色谱[12-15]（capillary electrochromatography，简称CEC）是近年来发展的一种新型高效微分离技术。它是把高效液相色谱的固定相填充在毛细管内（称作填充毛细管电色谱）或键合、涂布在毛细管的内表面（称作开管毛细管电色谱），以电渗流为流动相的推动力，根据样品中各组分在电场中迁移速度的不同或/和在两相间分配系数的差异而进行分离的。因此，毛细管电色谱可以看成高效液相色谱和毛细管区带电泳相结合的产物。

在毛细管电色谱中，电渗流是中性样品和流动相在毛细管内迁移的主要驱动力，它产生于填料表面和毛细管管壁硅羟基的解离，流型呈塞式线型，而液相色谱的流动相在压力流的推动下呈抛物线型。这是毛细管电色谱比高效液相色谱分离效率高的主要原因。此外，在毛细管电色谱中，流动相的线速度与固定相颗粒大小无关，因此，可以使用更小粒径的固定相，

其柱效通常可以达到 200000 块・m^{-1}塔板数以上，目前报道最高的柱效为 8000000 块・m^{-1}塔板数。与传统的毛细管电泳技术相比较，由于在体系中引入了固定相，而且液相色谱的固定相种类远远多于胶束毛细管电动色谱中可使用的表面活性剂，这使得中性化合物的分离更加容易实现。

毛细管电色谱的保留机理包括两个方面：其一，如同高效液相色谱，基于溶质在固定相和流动相间相互作用的不同；其二，如同毛细管区带电泳，基于溶质电泳淌度的差异。由于电泳机理的参与，毛细管电色谱中溶质的容量因子应用下式来描述

$$k^{*}=k'+k'\left(\frac{\mu_{ep}}{\mu_{eo}}\right)+\left(\frac{\mu_{ep}}{\mu_{eo}}\right) \tag{7-12}$$

式中，k^{*}是溶质在毛细管电色谱中的容量因子；k'是单纯色谱因素引起的容量因子；μ_{ep}是溶质的电泳淌度，μ_{eo}是流动相的电渗淌度。

由此可见，溶质在毛细管电色谱中的容量因子并非是色谱和区带电泳的简单加和，两者间相互影响。对于分离中性样品，μ_{ep}为零，k^{*}等于k'，反映纯粹的色谱过程；对于不保留的化合物，k'为零，反映纯粹的电泳过程；对于有保留的带电化合物，电泳与色谱机理同时起作用。因此，毛细管电色谱能同时分离中性和带电化合物，因而对于复杂的混合样品显示了强大的分离能力。

在填充毛细管电色谱中的谱带展宽与高效液相色谱相同，塔板高度可由 van Deemter 方程表示。但由于在电场驱动下，流动相的流型与通道直径无关，故涡流扩散项对塔板高度的贡献很小。如果进一步减小填料的粒径，传质阻力项的贡献也可忽略不计，故可简化成毛细管区带电泳的塔板高度公式。而在开管毛细管电色谱中塔板高度与开管液相色谱的相似，可用 Golay 方程表示。

$$H=\frac{2D_{m}}{u}+\frac{C_{m}d_{c}^{2}u}{D_{m}}+\frac{C_{s}d_{f}^{2}u}{D_{s}} \tag{7-13}$$

式中，u 是流动相的线速度；D_{m}、D_{s} 分别为溶质在流动相和固定相中的扩散系数；C_{m}、C_{s} 分别为流动相和固定相的传质阻力系数；d_{c} 为毛细管柱内径；d_{f} 为固定相的厚度。

通常情况下，第三项——固定相传质阻力项可以忽略不计，对塔板高度起主要作用的是轴项扩散项和流动相传质阻力项。

毛细管电色谱的柱制备被认为是目前制约其广泛应用的主要因素。填充毛细管电色谱柱的制备方法主要有匀浆填充法、电动填充法和拉伸填充法。匀浆填充法是将固定相在一定的溶剂体系中制备成匀浆液，利用高压液相色谱泵将其装入毛细管中。电动填充法与匀浆法相近，唯一不同是用电驱动的方法进行填充。这种方法更容易获得均匀床层的柱子。此外还有拉伸填充法和溶胶-凝胶法，但不常采用。填充毛细管电色谱柱制备的一个重要技术问题是塞子的制备。它的作用在于防止在电渗流或压力流的驱动下使填充床发生移动。开管电色谱柱制备主要有涂布聚合物固定相法、表面粗糙化键合固定相法以及溶胶-凝胶法。开管柱制备的关键在于增大表面积，以制备相比和柱容量均较大的柱子。

毛细管电色谱技术发展很快，近年来先后出现了加压电色谱、电色谱梯度洗脱和电色谱与质谱联用等多种电色谱分离模式。加压电色谱是在柱两端同时施加电场和压力的电色谱技术。尽管压力的引入使流动相的流型改变，会使柱效有所损失，但可以调整组分的分离度和选择性。另外，压力的引入还会抑制电色谱柱气泡的产生。梯度洗脱技术在分离复杂样品体系中十分重要。目前，电色谱已通过不同途径发展出线性梯度和台阶梯度洗脱技术，不仅提

高了电色谱的分离能力，同时也缩短了样品的分析时间。毛细管电色谱与质谱的联用技术不仅克服了毛细管区带电泳与质谱联用中流动相挥发性差的缺点，而且也避免了胶束电动色谱与质谱联用中胶束的干扰作用，是一种很有前途的定性定量技术。此外，最近还发展出毛细管电色谱与核磁共振的联用技术。

总之，毛细管电色谱不仅具有高效液相色谱的高选择性，而且也具有毛细管区带电泳的高效性，此外，还克服了胶束电动色谱表面活性剂种类有限的缺点，目前已用于多环芳烃、酚类、苯胺类化合物等环境样品，氨基酸、蛋白质、激素、多糖等生化样品以及各种手性、甾类药物等化合物的分离分析中。

第三节　毛细管电泳仪器

毛细管电泳是基于溶质在高电场下，在装有电泳介质的毛细管中的迁移速度不同而进行分离的技术。毛细管电泳仪器主要包括进样、分离、检测和数据处理系统。仪器的基本结构如图 7-3 所示。

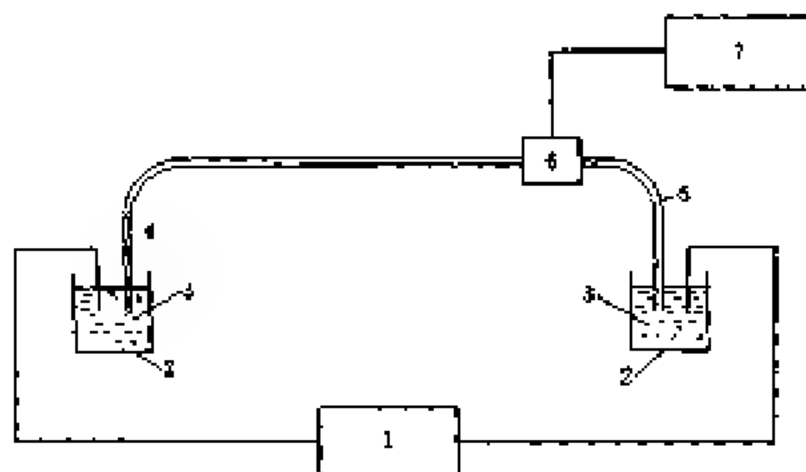


图 7-3　毛细管电泳仪器结构示意图

1—高压电源；2—电极槽；3—缓冲溶液；4—毛细管入口端；

5—毛细管出口端；6—检测器；7—数据处理机

一、进样系统

毛细管电泳所使用的毛细管内径只有几十微米，进样体积一般在纳升（nL）级。目前商品仪器最常用的进样方法有静压力进样和电动进样。静压力进样是最广泛使用的进样方法，它可以在毛细管进样端加压，或在检测段抽真空，或通过提高进样端由虹吸作用进样，一般进样的压差(2.5～10) kPa，时间范围(0.5～5) s。静压力进样量与样品基质无关，样品的进样体积和区带长度是压差、时间和毛细管尺寸的函数，而且与毛细管中缓冲溶液的粘度有关。当毛细管尺寸和压差不变时，通过进样时间控制进样量。如果没有压差进样，常用虹吸方法。虹吸进样高度为(5～10) cm，时间为(10～30) s。

电动进样是用样品瓶代替缓冲溶液瓶，再加电压，样品组分由电迁移和电渗流进入毛细管中。电动进样的特点是实际进样量与电渗流大小、样品浓度和组分的电泳迁移率有关，此外，由于样品基质变化而引起导电性的变化，也会导致电压降和进样量的变化。由于这些原因，电动进样的重现性一般不如静压力进样。但电动进样是一种非常简单的进样方法，无需附加装置，当用粘性介质或凝胶时，静压力不能使用，只能用电动进样。

在毛细管电泳中，因检测灵敏度高，常需进行柱上样品浓缩，最常用的方法是利用堆积效应进行样品的浓缩，堆积效应是基于样品区带和缓冲溶液区带间电场强度差实现的。等速电泳的区带压缩效应就是一种堆积效应浓缩方法。此外实现堆积效应的另一种方法是使样品的导电性明显低于缓冲溶液，加电压时样品区带的电场强度大，移动速度比在缓冲溶液中快，当样品离子达到缓冲溶液界面时，迁移速度变慢。这个过程延续到样品中所有的离子都到达缓冲溶液界面，引起样品浓缩成更窄的区带。在实际应用中，产生堆积效应最简单的方法是将样品溶解在水或低导电性的缓冲溶液中，采用电动进样，堆积效应自动发生。另外，还可以采用液相色谱与电泳耦合的方法达到浓缩的目的。

二、分离系统

毛细管电泳的分离系统包括毛细管、毛细管恒温系统和高压电源。

常用的毛细管材料为石英材料，外壁涂覆聚酰亚胺保护层，以增强弹性。内径通常为(25～75) μm，外径为(350～400) μm，有效长度为(80～100) cm。毛细管柱必须进行清洗处理。常用的方法是先用碱冲洗后再用缓冲溶液冲洗。也可用酸、有机溶剂或清洗剂清洗毛细管。

毛细管电泳柱的柱温一般要求控制在±0.1℃的精度。常用的恒温方法是高速流动的空气浴或液体浴，前者装置简单，后者效果更好。

毛细管电泳中常用的高压电源为(0～30) kV，电流为(0～300) μA。要求电压的稳定性在±0.1%，高压电源应可以更换极性，最好是双极性高压电源。高压电源有恒压、恒流或恒功率等方式。最常用的是恒压电源。

三、检测系统

检测器是毛细管电泳仪的关键部件之一。由于毛细管内径很小，所能检测的溶质量和体积很小，因此对检测器的灵敏度、分辨率和响应时间等性能有更高的要求。目前已发展的检测器有紫外吸收检测器、荧光检测器、电化学检测器、质谱检测器等，这里就几种常用检测器加以介绍。

(一) 紫外吸收检测

紫外吸收检测是目前毛细管电泳最常用的检测方法，用于检测有紫外吸收的物质。其原理是由于被测组分和背景电解质的吸光度不同，当被测组分通过检测窗口时，吸光度发生变化，其大小与被测组分的浓度、吸光系数和光路长度之间符合朗伯-比耳定律。在一定实验条件下，吸光度与被测组分的浓度成正比。紫外检测器按检测方式有固定波长、可变波长、二极管阵列和波长扫描检测器，前两种结构简单，灵敏度高；后两种能够提供时间-波长-吸光度三维图谱，可用于定性及峰纯度检测等。

紫外检测器应用非常普遍，但毛细管光程短严重地限制了它的灵敏度。通常可以采用以下几种方法来提高检测灵敏度：

① 改善信噪比。主要通过提高光源强度、采用聚焦、狭缝等减少背景光的影响，采用数字和电子滤波，设计良好的信号放大系统。

② 优化测定波长。使用低波长检测。

③ 扩展吸光光路长度，采用泡型或Z型检测池、轴向照射、多次反射池、采用矩形或扁形毛细管等。

无紫外吸收的物质可采用间接紫外吸收检测，其原理是采用含强紫外吸收物质的缓冲溶液作背景电解质，当无紫外吸收的被测组分通过检测器时，取代背景离子，引起区带背景离子浓度的变化，得到负吸收峰。在一定浓度范围内，负峰的大小与被测组分的浓度成正比。一般间接紫外检测法的灵敏度比直接法低(10～100)倍。

（二）荧光检测

荧光检测法是一种高灵敏度的选择性检测方法，可以检测能发荧光的物质。具有某种特殊结构(刚性平面结构)的化合物，经紫外光照射后，能发出波长比紫外光长的光线，一般在可见光范围内，这种光称为荧光，波长较短的紫外光称为激发光，产生的荧光称为发射光。荧光检测器是一种测量荧光强度的装置。当被分析的样品的浓度足够低时，荧光强度 F 与激发光强度 I_0、荧光物质的浓度 c 关系为

$$F=2.3QKI_0\varepsilon cl \tag{7-14}$$

式中，Q 为量子效率；K 为荧光收集效率；ε 为摩尔吸收系数；c 为样品的物质的量浓度；l 为光路长度。

在实验条件固定时，荧光强度与样品的浓度成线性关系。

荧光检测器采用氘灯、钨灯和氙灯作为激发光源，激光诱导荧光检测器用激光作为光源。荧光检测元件采用光电倍增管、二极管阵列和电荷耦合器。其中以光电倍增管应用最为普遍，二极管阵列和电荷耦合器均为多通道检测器，具有能提供波长-强度-时间三维谱图的特点。

能发生荧光的化合物较有限，对于自身不能产生荧光的化合物若含有适当的官能团，可与荧光试剂反应生成荧光衍生物，再用荧光检测器检测。与液相色谱类似，常用的荧光试剂有丹酰化试剂、邻苯二甲醛、萘二羧醛、荧光素异硫氰酸酯、9-芴基甲基氯仿以及芳胺基萘磺酸盐等。衍生化有柱前衍生和柱后衍生两种，不产生荧光的物质也可采用间接荧光检测，即使用含强荧光物质的缓冲溶液作背景电解质。

荧光检测法直接测量荧光强度，而紫外吸收检测法测量的是吸光度，多数情况下，荧光检测器的灵敏度要高于紫外检测器，特别适于痕量分析。

（三）电化学检测

毛细管电泳的电化学检测器有三个检测模式，即安培法、电导法和电位法。

安培法是一种高灵敏度的电化学检测法，它可以选择性地检测具有电活性的物质。当被分离的电活性物质流经电极表面时，由于溶液与电极间有电势差，电活性物质就要得到或失去电子，被还原或氧化。因此，溶液与电极间发生电荷转移，形成电流，该电流符合法拉第定律，形成的电流经放大后，记录其随时间的变化，得到电泳图。对于无电活性的化合物，可以采用间接安培法检测。与光学检测器相比，安培检测器的优点是，响应不依赖于光程长度，因此可使用极细的电泳毛细管而不牺牲信号，而且灵敏度高。其缺点是缺乏检测通用性。

电导法是直接检测毛细管电泳流出液电导变化的电化学检测方法。当溶质通过检测器时，由于电导率与缓冲溶液的电导率不同，而得到输出信号。电导检测器适用性强，但由于溶质离子是以缓冲溶液为背景，即它以高电导溶液为背景来测量因溶质离子存在而产生的电导微小变化，因此灵敏度较低。在分离柱末端使用抑制器，可以除去缓冲溶液中的平衡离子，从而仅使被测离子流至电导池，提高检测灵敏度。

虽然电位法很早就被用于大孔径管的测定，但由于灵敏度低，在毛细管电泳中很少采用。

（四）质谱检测

质谱不仅灵敏度高、专属性强，而且能提供化合物分子结构信息，是毛细管电泳的一种

非常理想的检测器。因此，自 1987 年首次实现 CE 和 MS 的偶联以来，CE-MS 受到了人们的关注，尤其在多肽和蛋白质的分离分析中。

质谱作为毛细管电泳的检测器有在线检测和离线检测两种方式，在线检测是指将分离毛细管直接偶联到 MS 中进行检测；而离线检测是指将毛细管电泳分离的组分收集后送 MS 检测。目前，除等离子体解吸质谱和基体辅助激光解吸电离质谱与 CE 以离线方式连接外，其他质谱均实现了与 CE 的在线连接。结合后功能的发挥程度如何，完全有赖于接口性能的好坏。要求接口既能保持 CE 分离的高效性，又要满足 MS 分析要求，并能有效地将各组分送到 MS 中，因此近年来 CE-MS 的研究主要集中在接口的设计和性能改进方面。

目前 CE-MS 中所用的接口有以下几种：

(1) 电喷雾接口　它是通过作用在毛细管末端的电压将电泳流出物以雾状喷出，再经过电聚焦以及在热氮气流中，使溶剂挥发形成样品离子流。其特点是电离效率高、产生高丰度的分子离子。

(2) 离子喷雾接口　它是将离子蒸发和电喷雾原理结合起来，电泳流出物经气体雾化器分散成荷电离子。其特点是高速气体辅助电泳流出物的雾化，因而可以降低喷雾电压，而且此方法灵敏度高，信号稳定性好。

(3) 连续流快原子轰击接口　其原理是电泳流出物和快原子轰击基质溶液被送到样品靶上，以快速运动的原子来轰击样品靶，使样品溅射和离子化产生稳定的离子流。其特点是不损失 CE 的柱效，适于极性、不挥发性和热不稳定性样品的离子化。

(4) 其他接口　包括大气压化学电离接口和音波喷雾离子化接口等。

质谱作为毛细管电泳的检测器在浓度灵敏度方面有时难以满足生化样品的分析需要，仍有待改进。在分析方法改进方面可通过样品预浓缩来提高浓度灵敏度，也可采用细内径的毛细管来提高绝对灵敏度。在仪器改进方面可采取毛细管内壁涂层技术和选用高灵敏度的质谱，例如离子捕获质谱、时间飞行质谱、傅立叶变换离子回旋共振质谱，或在 MS 中采用阵列检测器代替常规的电子倍增管来提高 MS 检测的灵敏度。

除上述常用检测器外，毛细管电泳还可以采用激光光热检测、激光散射检测、化学发光检测、放射性同位素检测以及折射指数检测等检测方法。表 7-7 列出了各种检测器的方法比较。

表 7-7　各种检测器的方法比较

检测原理	质量检测极限/mol	浓度检测极限①/(mol·L^{-1})	优缺点
紫外	10^{-13}～10^{-16}	10^{-5}～10^{-7}	通用性强 快速扫描包括二极管阵列和硅光电倍增管 可提供较多信息
荧光 柱上衍生 柱后衍生	10^{-15}～10^{-17} 8×10^{-16} 2×10^{-18}	10^{-7}～10^{-9}	灵敏，但样品通常要衍生化
激光诱导荧光	10^{-18}～10^{-20}	10^{-14}～10^{-16}	极其灵敏，但样品通常要衍生化，价格高
安培	10^{-18}～10^{-19}	10^{-10}～10^{-11}	灵敏，有选择性，但通常只用于电活性物质分析 需要专门的电极元件和毛细管改性
电导	10^{-15}～10^{-16}	10^{-7}～10^{-8}	通用，但需要专门的电极元件和毛细管改性

续表

检测原理	质量检测限/mol	浓度检测限①/(mol·L⁻¹)	优缺点
质谱	10^{-16}~10^{-17}	10^{-8}~10^{-9}	灵敏，可能提供结构信息，CE和MS之间的接口复杂
拉曼	2×10^{-15}		
间接紫外		—	通用，灵敏度较相应的直接紫外低

① 假设注射体积10nl。

四、常见故障及排除方法

采用毛细管电泳方法进行实际样品分析时，可能会因操作不当，仪器故障或实验条件选择不适宜而出现一些特殊现象。表7-8中给出了毛细管电泳中的常见故障及其处理方法[3,4]。

表7-8 毛细管电泳中常见故障及处理方法

现象	原因	处理方法
电源开启后毫无反应	(1) 电源没有接上 (2) 保险丝已断 (3) 自动进样盘装置不当	(1) 检查电源 (2) 更换保险丝 (3) 重新装置，然后再按Reset键
计算机通讯中断，基线噪声	(1) 门没关紧 (2) 预热不充分 (3) 柱子未改性，改性时或改性后没有充分老化 (4) 有样品被吸附在内壁 (5) 氘灯安装不妥或光学系统污染	(1) 检查，确认两个门已关好 (2) 通常开机后半小时才开始进样 (3) 若采用未改性柱事先应用NaOH清洗内壁，若采用改性柱则要进行适当老化 (4) 用酸性缓冲液冲洗柱子 (5) 由专门人员调整冲洗
电流显示为零	电极断掉，毛细管没有插对	更换，校正，重插
电流不稳或电流指示远低于正常值，但电压值数正常	(1) 毛细管堵塞 (2) 毛细管断裂 (3) 柱内有大气泡 (HPE-100) (4) 缓冲液液面偏低毛细管和液面没有接触 (5) 用水作稀释配样，在压力进样时将一部分水压入缓冲液中	(1) 把管子接到注射器中，或接到高压气上吹开，同时要检查缓冲液和样品溶液确保其中没有微粒，防止蛋白质等样品在柱内沉淀 (2) 更换 (3) 重新注入缓冲液 (4) 取出瓶子，将缓冲液加到一定的高度 (5) 用背景的运行缓冲液代替水配样
电流指示过高	柱过热	检查冷却系统 若仪器没有自冷却系统，可用干棉球蘸冷液冷却柱子并使之冷却
电流显示不断变化	(1) 毛细管内有许多小气泡 (2) 环境温度过高或过低，通风不好（对没有温控装置的仪器而言）	(1) 重新注入缓冲液 (2) 调整环境温度，最好使用温控装置
恒压操作时电压显示值降低	电流设置过低	重新设置电流值
噪声	(1) 放电或柱系统漏电 (2) 毛细管柱有裂缝，漏电 (3) 电极损坏 (4) 电压过高	(1) 可以在高压下测基线，如果噪声消失说明是柱系统的问题，请清洗 (2) 更换 (3) 更换 (4) 降低电压

续表

现　象	原　因	处理方法
噪　声	(5) 氘灯不稳定或老化 (6) 毛细管柱的光学窗口被污染 (7) 接地问题 (8) 缓冲液离子强度过大 (9) 检测器参数设定错误 (10) 数据系统设定错误 (11) 缓冲溶液浓度太大 (12) 缓冲溶液或样品中有小颗粒杂质 (13) 毛细管有很小裂缝	(5) 检查参比水平，如有必要更换之 (6) 清洗 (7) 将积分仪和电泳仪接在同一电源上 (8) 更换 (9) 检查检测器波长和衰减设定值 (10) 重新设定数据处理参数 (11) 降低缓冲溶液浓度 过滤缓冲溶液或样品溶液 检查样品与缓冲溶液是否发生作用 (12) 过滤样品或缓冲液 (13) 更换毛细管
基线有尖锐小峰、发生噼啪声，吱吱声	静电	作电器诊断，清洗或更换相应部件
基线太平	(1) 毛细管检测窗与检测器光路未对好 (2) 电压未加上 (3) 信号线连接错误 (4) 毛细管堵塞 (5) 检测灯熄灭 (6) 检测器参数设定错误 (7) 数据系统设定错误	(1) 重新安装毛细管 (2) 检查电压值 (3) 检查信号线是否连接正确 (4) 冲洗或更换毛细管 (5) 更换灯源 (6) 检查检测器波长和衰减设定值 (7) 重新设定数据处理参数
电迁移障碍	(1) 样品带电性质相反 (2) 样品离子强度过高 (3) pH 不适宜，使样品形态改变 (4) 样品离子强度过低	(1) 改变电极方向 (2) 稀释样品 (3) 调整 pH (4) 增加样品离子强度
压力进样障碍	(1) 气源压力不足 (2) 压力表没有设置在规定值或阀未打开 (3) 外接管和仪器上的接头没有接好 (4) 仪器内部气动调节损坏 (5) 毛细管断裂 (6) 加压密封圈坏	(1) 换气 (2) 检查压力表，打开阀门 (3) 检查气源和仪器的连接 (4) 请专门人员检查 (5) 更换 (6) 更换
进样重复性差	(1) 进样时间太短 (2) 有管壁吸附 (3) 缓冲液的离子强度不恒定 (4) 样品粘度不一致 (5) 缓冲液耗尽 (6) 样品或缓冲液蒸发	(1) 延长进样时间 (2) 采用管壁作过涂渍的柱子 (3) 更换缓冲液 (4) 校正样品粘度，使用内标校准 (5) 补充，使用大的贮器，加大更换频率 (6) 补充，进样器加盖，降低样品温度
无　峰	(1) 极性设置错误，样品没有通过检测窗口 (2) 波长设置错误 (3) 样品分解 (4) 样品浓度太低或体积太小 (5) 样品已被吸收或沉淀 (6) 连接样品缓冲液的小离心管被阻塞或已没有液体	(1) 重新设置 (2) 重新设置 (3) 重新取样配样 (4) 增加样品浓度或体积 (5) 更换 (6) 补充或更换

续表

现象	原因	处理方法
无峰	(7) 毛细管的检测窗口没有对上	(7) 重调
	(8) 积分仪或记录仪的连线有误	(8) 重校
	(9) 粘性	(9) 有的粘性试样一、二次进样时无峰，可连续进几次样
峰小	(1) 满标吸收单位 (AUFS) 设置太高	(1) 重新设置
	(2) 积分仪选择开关设置不合适	(2) 选择适当的讯号输出
	(3) 波长设置不佳	(3) 重新设置
峰迁移重现性差	(1) 温度变化使粘度和电渗改变	(1) 检查毛细管恒温装置，使之正常工作，对没有恒温装置的要用缓冲液冲洗样子
	(2) 毛细管壁的吸附改变电渗	(2) 对毛细管老化，或提供足够的平衡时间
	(3) 由于在较高（或较低）pH 下老化毛细管柱，或使用过低（或过高）pH 的缓冲液造成电渗滞后	(3) 避免 pH 突跃，提供足够的平衡时间
	(4) 缓冲液耗尽或变化（原因包括电解，使 pH 改变，缓冲液蒸发，冲洗废液进入出口贮槽等）	(4) 经常更换缓冲液贮瓶，加压冲洗自动进样槽，使用单独的贮器收集废液，先将毛细管浸进缓冲液或水中
	(5) 进出口两贮器的液面不在一个水平上形成管内液流并不可重复	(5) 使前后两贮器的液面保持一致
	(6) 不同批号的管子硅醇含量不同使壁电荷不同或电渗有变	(6) 使用同一批号的管子
	(7) 电压变化使迁移时间改变	(7) 不可接受，报告厂家
峰面积重现性差	(1) 温度变化改变了粘度和进样量	(1) 设法使毛细管恒温
	(2) 样品溶剂蒸发增加了样品浓度	(2) 对样品加盖或冷却进样器
	(3) 样品转移出或额外样品进入毛细管	(3) 使用带扁平光滑进样端的毛细管，除去毛细管进样端的聚酰亚胺；在进样后把毛细管浸到缓冲液或水中洗一下
	(4) 样品被吸附到壁上或则使峰型变坏，或则使之不能流出	(4) 改变缓冲液的 pH 值，增加缓冲液的浓度，使用添加剂
	(5) 信噪比太低，造成积分误差	(5) 优化积分参数，增加样品浓度，使用峰高定量
	(6) 突然施加高压，使缓冲液热膨胀使样品流出	(6) 程序升高
	(7) 电进样引起的样品的歧视	(7) 使用压力进样，或采取定量校正
柱效低	(1) 毛细管污染	(1) 清洗或更换毛细管
	(2) 焦耳热太大	(2) 降低电压 降低缓冲溶液浓度
	(3) 样品溶液导电性太高	(3) 用水稀释样品 样品去盐 增加缓冲溶液浓度
	(4) 缓冲溶液耗尽	(4) 使电极两端的缓冲液液面相同
	(5) 进样量太大	(5) 减少进样量
灵敏度差	(1) 进样量太小	(1) 增加进样时间
	(2) 毛细管污染	(2) 清洗或更换毛细管
	(3) 检测器灯源老化	(3) 更换灯源
	(4) 检测器参数设定错误	(4) 检查检测器波长和衰减设定值
	(5) 数据系统设定错误	(5) 重新设定数据处理参数

续表

现 象	原 因	处 理 方 法
峰太小	(1) 检测波长设置有误 (2) 分析时间设置有误 (3) 管壁吸附 (4) 样品中有背景比相应的组分	(1) 检查检测器波长设置 (2) 加长分析时间设置 (3) 对管壁作必要的处理 (4) 调整pH，改变缓冲液种类或采用其他分离模式如MEKC、CEC等
峰太多	(1) 气泡 (2) 缓冲液中有固体杂质 (3) 前一次分析的样品残留 (4) 样品分解	(1) 缓冲液脱气除气 (2) 过滤缓冲液 (3) 冲洗毛细管柱 (4) 降低温度或换样品
峰太低	(1) 检测波长不适宜 (2) 检测器不适宜 (3) 样品失效	(1) 改变检测波长 (2) 改变检测方法，如电化学检测器等 (3) 样品长时间放置可能已分解，或降解，换样品
峰分叉	样品太浓	减少进样时间，或稀释样品
峰拖尾	(1) 电流太大 (2) 样品与管壁作用	(1) 降低缓冲液离子强度或降低电压 (2) 调整缓冲溶液 加有机改性剂 管壁处理 改变分离模式如MEKC，EC等

参 考 文 献

1 [illegible]. 分析化学前沿. 北京: 科学出版社, 1991: 147

2 竺安. 毛细管电泳进展. 第二卷. 广州: 华南理工大学出版社, 1995: 1

3 傅小芸, 吕建德. 毛细管电泳. 杭州: 浙江大学出版社, 1997. 15

4 林炳承. 毛细管电泳导论. 北京: 科学出版社, 1996

5 Foret F, Křivánková L, Boček P. Capillary Zone Electrophoresis. New York: VCH publishers Inc, 1993

6 Landers J P. Handbook of Capillary Electrophoresis. Boca Raton FL: CRC press, 1994

7 邓延倬, 何金兰. 高效毛细管电泳. 北京: 科学出版社, 1996

8 Tsuda T. Electric Field Applications in Chromatography, Industrial and Chemical Process. New York: VCH publishers Inc, 1995

9 Terabe S, Otsuka K, Ando T. Anal Chem, 1985;70:3861~3870

10 Guan F, Wu H, Luo Y. Anal Chim Acta, 1997;342:134~144

11 Stahlberg Jan. Anal Chem, 1997;69:3812~3821

12 Smith N W, Evans M B. Chromatographia, 1995;41:197

13 Miyawa J H, Alasandro M S, Riley C M. J Chromatogr A, 1997;769:145~153

14 Bowser M T, Chen D D Y. Electrophoresis, 1998;19(8~9):1452~1460

15 Yan C, Dadoo R, Zare R N. Anal Chem, 1996;68:2776~2730

第八章　平面色谱法

第一节　薄层色谱法简介

1938 年，Izmailov 和 Shraiber 首先实现了在氧化铝颗粒薄层上对一种天然药物的分离，奠定了薄层色谱法（TLC）的基础；直至 1949 年，美国化学家用 TLC 法成功地分离了精油中的萜烯类化合物；1958 年德国化学家 Stahl 系统地规范了 TLC 方法的涂布材料（TLC 固定相）和涂布设备，进一步完善了 TLC 技术[3]。尽管从 20 世纪 60 年代开始，HPLC 方法的出现和发展，对 TLC 法的发展有所影响，但是 TLC 技术仍得到了较大发展，特别是 70 年代后期，随着高效薄层材料、商品级预涂板及其相关技术的发展，使 TLC 更加简便、快速。80 年代以后，相继出现的计算机化薄层色谱扫描仪和相关仪器，也使现代仪器化薄层色谱法（Modern Instrumental TLC）得到了进一步的普及应用[4-6]。

薄层色谱法也是一种基于混合物组分在固定相和流动相之间的不均匀分配或保留而将其分离的方法。与 HPLC 不同，TLC 将固定相涂铺在载板上，使之形成均匀的薄层。被分离的样品溶液点加在薄层板下沿的位置，再把下沿向下放入盛有流动相（深度约 5 mm）的密闭缸中，进行色谱展开，实现混合组分分离。被展开的组分斑点即色谱谱带，通过适当技术对色谱谱带进行处理可得到定性和定量的检测结果。

薄层色谱法具有技术比较简单，操作容易，分析速度快，高分辨能力，结果直观，不需昂贵仪器设备就可以分离较复杂混合物等特点。薄层色谱和高效液相色谱方法的特征比较见表 8-1。

表 8-1　薄层色谱法和高效液相色谱法方法特征比较[2]

特　　性	TLC	HPLC	特　　性	TLC	HPLC
准确度	相　当	相　当	时间有效利用	方　便	不　能
重现性	相　当	相　当	对污染物抗受力		
灵敏度	相　当	相　当	颗粒物质	无影响	影响大
特效性	相　当	相　当	不可逆吸附物质	无影响	有影响
有效分析时间：			腐蚀性物质	无影响	影响大
少量样品	较　长	较　短	自动样品处理	可　以	可　以
大量样品	较　短	较　长	色谱衍生化	方便，便宜	受限，昂贵
流动相质量控制	不是关键	是关键	操作成本	低	高
溶剂对波长下限时的影响	无	大	在线光谱图记录	可　以	可　以
对全部被分离组分的检测	方　便	局限性大	进一步定量潜力	较　大	较　小
吸附剂再生	不要求	关　键			

一、薄　层　板

TLC 分离的选择性主要取决于固定相的化学组成及其表面的化学性质，可通过改变涂层材料的化学组成或对材料表面进行化学改性来实现改变薄层色谱分离的选择性。此外，固定相的物理性质，如比表面积、比孔容、平均孔径等也对其色谱行为产生影响。

（一）载体

对 TLC 载板的基本要求为：机械强度好、化学惰性好（对溶剂、显色剂等）、耐一定温

度、表面平整、厚度均匀、价格适宜。厚度约为(1.5～4) mm 的玻璃板可以满足这些要求，因此在自制板和商品预涂板中，被广泛采用。聚酯箔（通常为 0.25 mm 的聚乙烯对苯二酸酯箔）和铝箔(厚约 0.1 mm) 常被用作商品预涂板载板。这两种板的突出优点是可以容易地裁剪成所需要的尺寸和形状。

常用规格 TLC 载板的最大尺寸为 20 cm×20 cm，更大者一般用于为加大上样量进行的制备分离。实验室选用玻璃载板时，应先将选用规格的玻璃板浸入饱和 Na_2CO_3 溶液中数小时，以除去表面油污。然后再用清水漂洗干净，待晾干后，放入干燥器中备用。

（二）固定相

TLC 固定相包括未改性固定相和表面改性固定相两类。硅胶和氧化铝是最常用的两种未改性固定相，此外硅藻土、纤维素、聚酰胺等也可作为 TLC 固定相。硅胶具有表面活性、多孔性、价格低等特点。氧化铝的表面化学活性高于硅胶。市售氧化铝有碱性、中性(pH＝7～7.5)和酸性(pH＝4)之分，可以满足不同目的的需求。

表面改性固定相通过涂饰材料表面特性的改变调节 TLC 的色谱选择性。

（三）粘合剂

在制备薄层板时，一般需在吸附剂中加入适量的粘合剂，其目的是使吸附剂颗粒之间相互粘附并使吸附剂薄层紧密地附着在载板上。添加粘合剂也可改变薄层的润湿性等物理性质，从而改变薄层板对样品的色谱分离特征。

常用 TLC 粘合剂可分为无机粘合剂和有机粘合剂两类。无机粘合剂一般采用煅石膏（硫酸钙）。添加石膏的商品吸附剂以字母“G”为标志，如硅胶 G、氧化铝 G 等。不含粘合剂的商品吸附剂其标志为字母“H”，如硅胶 H 等。无机粘合剂具有耐酸碱、耐高温的优点，但以石膏作粘合剂也存在易凝固、要求涂板迅速等不足。由于 $CaSO_4$ 微溶于水，当采用水作流动相时，有时会出现薄层脱离载板的现象；薄层强度也较差，点样易被毛细管或注射器针尖损伤，更不适用喷样器点样，同时在展开、显色和扫描时，也易受损伤。

有机粘合剂包括羧甲基纤维素钠(CMC)、淀粉、聚乙烯醇和有机高分子聚合物等，实验室制板时经常采用 CMC，这种粘合剂具有使用方便、薄层强度高等优点，但不适于用浓硫酸做显色剂。目前商品预涂板所使用的粘合剂为化学惰性好、能耐一定温度、板强度高的高分子聚合物，制备反相薄层板时，常采用高级烷烃(如正十八烷)和亲脂性高分子聚合物作粘合剂。

（四）荧光指示剂

荧光指示剂是便于在薄层色谱板上对一些基本化合物斑点（无颜色斑点、无特征紫外吸收的斑点）定位的试剂。加入荧光指示剂后，可以使这些化合物斑点在激发光波照射下显出清晰的荧光，便于检测。经常采用的短波长紫外指示剂包括钠荧光素、硫化镉和锰激活过的硅酸锌 ($ZnSiO_4$-Mn)，而长波长紫外指示剂包括羟基嘧啶磺酸钠和银激活过的硫化锌-硫化镉(ZnS-CdS-Ag) 等，也可以采用彩虹(366 nm)和阴极绿(254 nm)等有机荧光指示剂。荧光指示剂在 TLC 固定相中用量一般为 1.5%～2.0%。

含有荧光指示剂的商品吸附剂和预涂板，常标记以“F”，如硅胶 HF_{254}、F_{365}等，下角标表示激发光波长。

二、薄层板的涂铺

（一）涂铺方式及装置

涂板方法可以分为涂布法、倾注法、喷洒法及浸渍法四类，其中涂布法是应用最广泛的

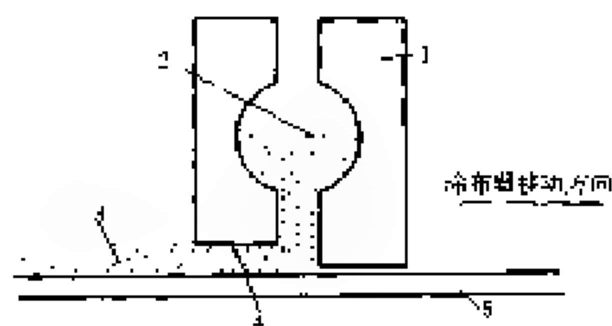


图 8-1 薄层涂布法原理图
1—涂布器；2—匀浆；3—薄层；4—涂布器载板；5—载板

涂板方法，涂布装置也可以按操作分为两类：第一类称Stahl型涂布器，特点为固定载板、匀浆涂布槽匀速移动；第二类称Kirchner型涂布器，特点为匀浆涂布槽固定、载板匀速移动。涂布器的涂层质量主要取决于载板和涂布槽的相对移动速度及速率的均匀性，方法原理如图8-1。

（二）匀浆的制备和薄层涂铺

TLC固定相薄层涂铺大多采用湿法匀浆，要求薄层均匀、平整、无气泡，不易造成凹坑和龟裂。薄层涂铺采用的匀浆溶剂、用量及配制技术，是决定薄层质量的重要因素。一些固定相常用的调浆溶剂及其用量见表8-2。

硅胶等固定相可以浸渍某些络合剂，以改变其色谱分离效能和选择性。表8-3列出了某些络合剂所适用的样品范围。

表 8-2 一些固定相常用的调浆溶剂及其用量

固定相	调浆溶剂	固定相(g)：溶剂(ml)
硅胶G	水	1：(2~2.5)
氧化铝G	水	1：(1~2)
硅藻土G	水	1：2
纤维素	水，95%乙醇或丙酮	1：5~6
聚酰胺	甲醇	1：4~10

表 8-3 一些络合剂的适用范围

络合剂	适用样品
硝酸银	烯烃、炔烃、萜类、挥发油、脂肪酸
硼酸	糖、甘油酯
四硼酸钠	[illegible]
硝酸铜	多元胺
乙酸镉	芳香胺
草酸钾	2-羟基酸

浸渍可以采用多种方法，包括：

① 制备匀浆时加入适量络合剂溶液；

② 涂成板后用络合剂溶液展开一次；

③ 将涂成板浸入络合剂溶液中；

④ 将络合剂溶液均匀地喷到薄层上。

例如，常用的$AgNO_3$络合剂，调浆时以12.5%浓度的$AgNO_3$溶液代替水即可，也可将薄层板浸渍在10%的$AgNO_3$甲醇溶液中(5~10) s。

（三）预涂薄层板

商品化预涂薄层板品种、规格繁多。正相板多为硅胶薄层板；反相板以化学键合相硅胶板为主，如，C_2，C_8及C_{18}键合相硅胶板等。固定相中添加有荧光指示剂预涂板，使用方便。预涂板的系统化、规模化生产，保证了产品质量的稳定性，也使分析重现性得到改善。

预涂板载板以玻璃板为多，多数预涂板都密封包装，用前一般不必再活化。

表 8-4 不同材料薄层的活化参考条件

固定相	活化温度/℃	活化时间/min
硅胶	110	60
纤维素	105	20~30
氧化铝	110	30
硅藻土	110	30
聚酰胺	60~80	30

（四）薄层板的活化处理

薄层板活化可以获得适宜活性，提高色谱分离效率和选择性。具体活化方法：将涂铺好的薄层板在室温下阴干后（或使用前），放在适当温度下烘烤一定时间，冷至室温存入干燥器中备用。一般薄层活性级随含水量增加而降低，刚刚涂好

的薄层板，在溶剂尚未挥发完全之前不宜放入烘箱活化，否则易破坏涂层的平整性或形成龟裂。表8-4列出不同材料薄层的活化参考条件。

薄层材料的活性以Brockmann活性级度量。应该指出，决不是活性级越高越好，需根据被分析样品的极性进行选择，一般以Ⅰ～Ⅱ活性级为好。

三、点　　样

（一）对点样的要求

点样是TLC分离和精确定量的关键。不同种类的样品常需选用不同的配样溶剂，一般采用易挥发的非极性或弱极性溶剂配样。离子型化合物样品，常需先衍生化成在挥发性强、极性小的溶剂中易溶解的样品衍生物。

最适合点样的样品浓度应为(1～5) μg·μl⁻¹，点样体积视点样技术不同而异。如用毛细管或注射器点样，一次不超过0.5μl，需加大样品溶液体积时，应采用多次点加法。为达到使样品在原点处集中的目的，第二次点样必须在前一次点样的溶剂挥发完之后进行，点样过快，溶剂可能将组分冲洗到样品点外沿，形成"环"，并可能产生虚假分离，多次点样时，用氮气流在样品点上方缓缓吹散或微加热可以加快溶剂挥发。点样量对展开后斑点的形状和位置有较大影响。样品量超载会引起斑点拖尾、分离度变差。TLC定量分析时，样品量的适宜范围为最小检出量的几倍至几十倍。

样品原点一般在1mm左右为佳，原点过大或样品量过大，会导致分离变坏。条形原点比圆形原点对分离更有利。样品原点的大小和样品溶液体积有关，也与样品中最小保留组分的迁移有关。点样时也应避免破坏薄层的平整性。样品原点如果出现小坑，则会引起展开斑点畸形，使错分离失败。

（二）点样装置

点样步骤一般占TLC全部分析时间的三分之一左右，所以使点样仪器化、自动化，既快又准，获得好的重复性，是TLC分析工作者所期盼的。手工点样一般采用实验室自制的玻璃毛细管即可。但定量分析，必须采用定容玻璃毛细管或铂铱合金定容毛细管，容积一般为(0.1～5) μl，后者更适用于微小体积样品溶液的点加。为避免手工点样操作者技能的影响，可借助手工点样辅助仪器。最新发展的自动点样装置有两种，即点状点样器和条带状喷样器。图8-2为由喷样器得到的样品条带示意图。

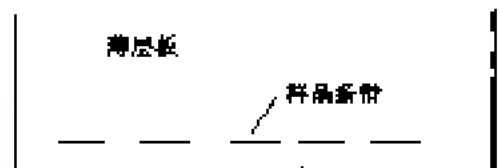


图8-2　由喷样器得到的样品条带示意图

采用喷样器除样品溶液需用手工吸入注射器外，其他全部工作参数如板宽(<200 mm)、样品带长(0～190 mm)、板边空距、样品带间距、喷样[(4～15)s·μl⁻¹]、喷样量[(1～99)μl]、通道数、喷加次数等均可通过电脑编程设定。点状原点一般取样(50～5 000) nl，带状原点取样(1～20) μl。

四、展　　开

TLC展开就是流动相沿薄层（固定相）运动，以实现样品混合组分分离的过程。这一过程需在具有一定形状的展开室中进行，薄层展开有三种形式(见图8-3)，表8-5比较了不同形式展开的特征，圆形展开对分离过小或过大R_f的化合物具有一定优越性，但对薄层质量、点样技术、展开装置及扫描测量等方面均有较严格的特殊要求，因此，直线式展开方式仍为实

际应用中使用最普遍的展开方式。

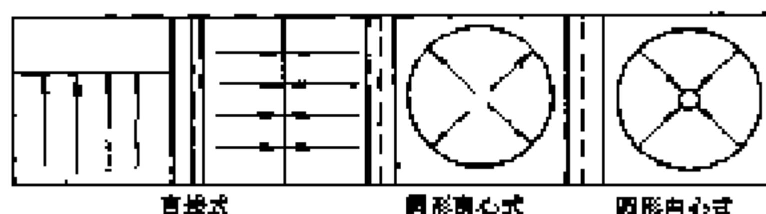


图8-3 薄层色谱展开形式

表8-5 不同形式展开的特征

展开形式	直线式		圆形离心式	圆形向心式
展开装置	平底或双槽缸	水平展开室	U-室	反向U-室
最佳分离距离/mm	50~60	50	25	35
适用范围	中等 R_f 化合物	中等 R_f 化合物	低 R_f 化合物	高 R_f 化合物
相应的容量因子 $(k=(1-R_f)/R_f)$	10	10	100	1

（一）直线式展开

直线式展开技术可以分为近水平展开、上行展开、下行展开、双向展开和水平展开五种形式，薄层色谱分离一般样品多采用上行展开方法。

1. 近水平展开

将适量展开剂倾入长方形玻璃展开槽中，点样后的薄层板浸入溶剂0.5 cm，薄层上端垫高使薄层与水平成5°~10°角，展开剂由下而上进行展开，这种方法常用于不含粘合剂的软板展开。

2. 上行展开

流动相沿薄层固定相向上运动的展开方式，此时薄层板放置的角度对流动相移动速率和斑点形状有一定影响。薄层板水平角度为75°时，对展开最为有利。这种展开方式适合于含有粘合剂的硬板展开。

3. 下行展开

在展开槽内薄层板上端放置一个盛展开剂的溶剂槽，用厚滤纸将溶剂引到薄层板的上端，使展开剂自上而下流动，下行法中展开剂受重力和毛细管作用双重影响，因此展开速度较快。由于这种展开方式采用的装置比较复杂，目前只有在葡聚糖凝胶板上展开时或纸色谱中采用。

4. 二维展开

在正方形薄层板上，在两个垂直的方向进行基于相同或不同机理的展开。将样品点在薄层板的一个角上，第一方向展开适当距离后，取出薄层板，并使溶剂完全蒸发，再以与原点成90°方向展开。第二方向展开可采用不同溶剂，也可将薄层板进行化学反应后，再行第二方向展开，通称SRS展开技术（分离－反应－分离）。

二维展开常用于复杂较多组分样品的展开，通过调节展开剂极性、增加展开距离，进一步提高分离能力。这种方法多用于定性，对于定量不很适用。

5. 水平展开

水平展开一般需在专用设备上进行，文献[9]介绍了几种典型的水平展开仪器系统的原理和使用方法。样品一般点在薄层板的两边，展开剂从两边向中间展开，在中心汇合后停止操作。

（二）圆形离心式展开

圆形离心式展开也叫圆心式展开。溶剂由圆心进入，向四周展开，在专用圆形离心式展开U型展开槽中进行。

圆形离心式展开具有展开距离短，展开速度快，节约展开剂，分离效率高等特点。这种展开方式斑点的比移值为线性展开对应比移值的平方，因此适用于 R_f 值较小的组分的分离。

（三）圆形向心式展开

圆形向心式展开也叫反圆心式展开，展开需在专用反U型展开室中进行。样品点在薄层的四周，展开剂自四周向圆心展开，展开速度快，可以提高 R_f 值较大组分的检测灵敏度和定量准确性。

（四）特殊展开技术

现广泛应用的展开技术是在已选好的展开系统中进行一次展开，一般可以得到满意的分离效果。当一次展开效果不佳或难找到优化展开系统时，必须考虑采用某种特殊展开技术。

1．多次展开

一次展开分离不理想时，可将TLC板干燥后，再放入展开室进行重复展开，直至分离效果满意为止。

2．分步展开

用不同流动相（极性不同）依次对薄层板进行展开，对极性差异较大的混合物组分能达到较为理想的分离。

3．连续展开

使流动相沿薄层固定相连续流动，并使薄层上缘溶剂不断蒸发掉。因无溶剂前沿，为计算溶质相对保留值，必须同时选择参比物展开。

4．离心展开

将薄层板以适当转速旋转时，流动相便会以相应速率在薄层固定相上输运，使分离速度加快。该方法主要应用于TLC制备分离。

5．梯度洗脱展开

将柱色谱的梯度洗脱技术用于TLC系统，即梯度改变流动相组成、pH等参数，使样品更好分离。

6．梯度薄层

将薄层固定相做成pH梯度、盐梯度（$AgNO_3$ 等）或固定相梯度，再按流动相三种不同方向展开（沿梯度、逆梯度、横梯度）；也可采用层厚度梯度分离大 R_f 值痕量组分和小 R_f 值大量组分的混合物。

7．多维技术

用同一流动相在三块薄层板上同时展开，再用性能差别较大的二种不同流动相进行第二方向展开；并用不同试剂对三张谱图进行显示。该方法对复杂混合物分离较适宜。

8．加压展开

具有较多的柱色谱特征。用泵加压使流动相流过密封的薄层固定层床，实现分离（不靠毛细作用力）。加压展开必须在特殊装置中进行。此法可同多次展开、多维展开、梯度展开结合应用。

9．控温展开

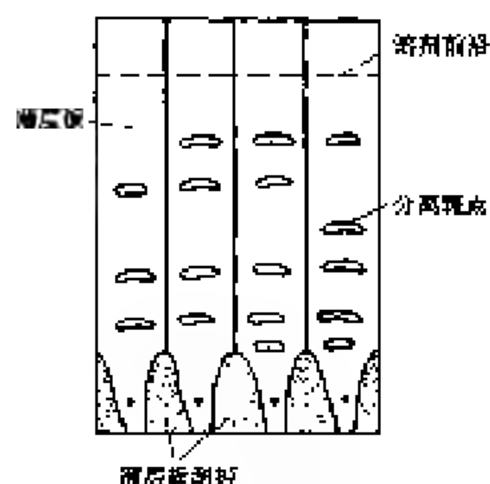


图 8-4 楔形技术展开示意图

对吸附 TLC 法而言，温度对分离的影响并非很大，一般可在 4~20℃ 之间进行；但对分配 TLC 而言，温度变化不可忽视，使用带有温控装置的展开室，是改善分离状况的重要条件。

10. 楔形技术

将薄层板固定相刮成楔形，把样品点在固定相窄带部分，结果形成似圆形离心样图谱，展开斑点呈弯月状（见图 8-4）。

（五）展开装置

展开装置有多种类型，较为常用的展开装置包括矩形展开槽和双槽展开槽、自动多步展开仪(AMDD)、U 型展开室系统等数种，表 8-6 列出了这些展开装置的性能比较，图 8-5~图 8-8 也给出了对应的几种装置示意图。

表 8-6 常用展开装置的性能比较

展开装置	性能
矩形展开槽和双底展开槽	简单、实用，溶剂用量少，便于溶剂蒸发，可用不同溶剂调节槽内气氛
可调蒸气展开室	可进行多槽不同溶剂隔离带条展开，在同一薄层板上进行多通道展开，便于选择优化溶剂系统；通过隔板将固定相涂层与溶剂蒸气隔绝，可进行交层展开
HPTLC 直线式展开室	溶剂靠薄层两端的玻璃条与溶剂槽内壁之间间隙所产生的作用力运动，展开由薄层两端向中间进行，当两端溶剂前沿会合时，展开结束 此种展开室的优点是可使分离样品量增加一倍、节省溶剂、展开条件易重现
自动多步展开仪(AMDD)	色谱图在同一方向上可被多次重复展开，后一次溶剂洗脱能力（极性）比前一次弱，而展开距离增长；每一次展开完成后，原用溶剂、吸附层中的溶剂及展开室中的溶剂蒸气均被真空抽干，再进行下一次新溶剂洗脱；根据待测样品不同，可设定通用梯度程序（通用梯度和专门优化梯度）和分离步数[一般定(20~25 步)]。自动多步展开通用梯度程序曲线见图 8-9
自动展开室(ADC)	由普通玻璃展开槽（平底或双槽）结合微处理机程序控制系统构成；可按需要设定程序，能够得到重现性较好的色谱图
U 型展开室系统	可进行高效薄层板径向展开，得到圆形 TLC 图；根据展开剂运动方向不同，又分为圆形离心展开(U-室)和圆形向心展开或反向 U-室；U-室和反向 U-室展开适于具有较小 R_f 值和较大 R_f 值组分的分离，具有处理样品量大、斑带集中、展开速度快等特征
加压薄层展开系统(OPTLC)	可用于多种展开形式，具有可控制的标准化展开条件，不受溶剂蒸气相影响，可优化流动相流量（一般 20ml·h^{-1}，相当于线速 1cm·min^{-1}，最高可达 2.5cm·min^{-1}），斑带恒定、展开时间短、流动相用量少等特点

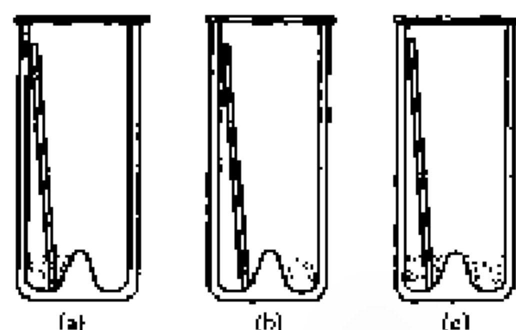


图 8-5 双底玻璃展开槽

(a) 展开中；(b) 预吸附中；(c) 展开过程中以不同于展开剂的溶剂调节槽内气氛

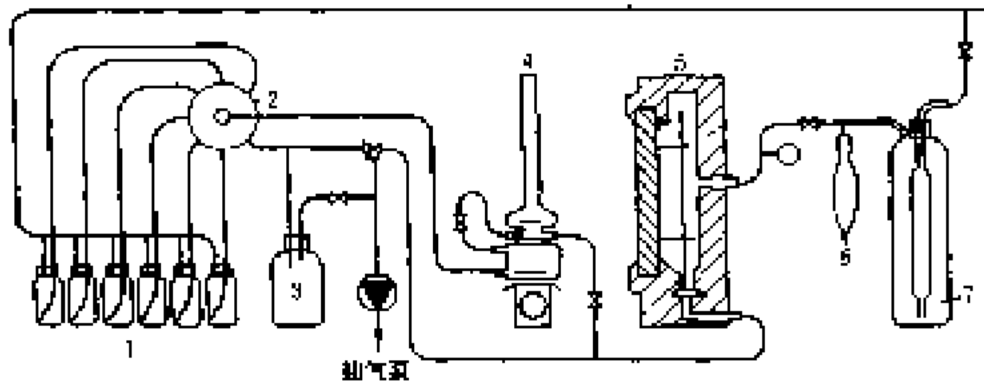


图8-6 自动多步展开仪流程图
1—溶剂瓶；2—电动阀；3—废液瓶；4—混合室；5—展开室；6—气囊；7—配气瓶

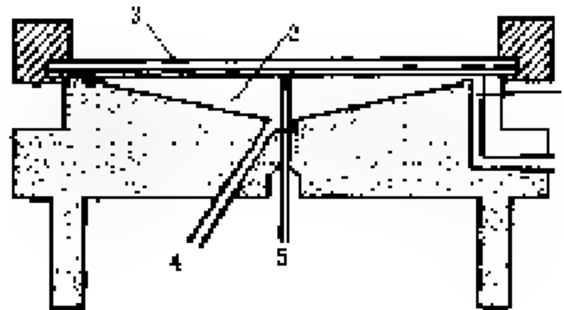


图8-7 U型展开室系统原理图
1—溶剂蒸气入口；2—展开室腔；3—薄层板；4—溶剂蒸气出口；5—展开剂输送管

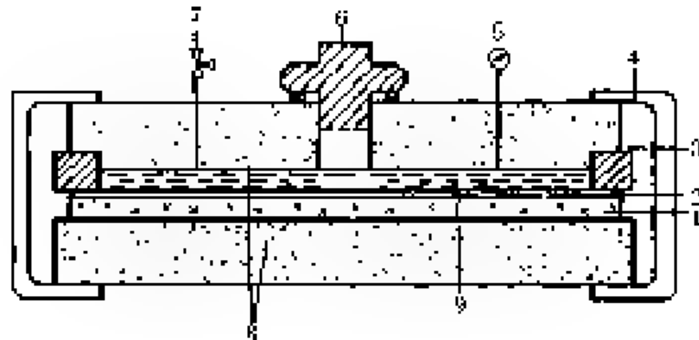


图8-8 加压薄层色谱展开室剖面图
1—底板；2—薄层；3—橡皮垫圈；4—固定钢；5—压力表；6—溶剂入口；
7—水或气体入口；8—展开室底座和上盖；9—透明薄膜

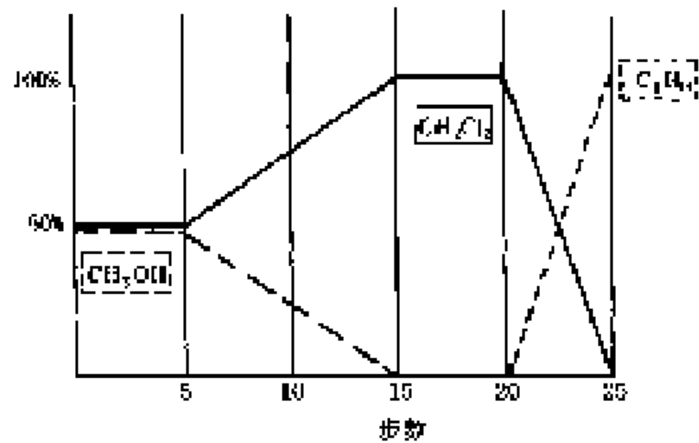


图8-9 自动多步展开通用梯度程序曲线

第二节 薄层色谱参数

一、流动相动力参数

当吸附剂、流动相和蒸气相间达到平衡时，溶剂前沿在板层上的移动速率随时间的变化为

$$d_{m}^{2}=kt \tag{8-1}$$

式中，d_t 为溶剂前沿在时间 t(s)内移动的距离(mm)；k 为流动相速率常数($mm^2 \cdot s^{-1}$)，它反映了流动相在薄层中迁移的动力学特性。

如果展开体系未达到平衡，式（8-1）需加以校正

$$k=2k_0 d_p \frac{\gamma}{\eta}\cos\theta \tag{8-2}$$

式中，k_0 为溶剂渗透常数；d_p 为平均颗粒直径；γ 为流动相表面张力；η 为流动相粘度，θ 为溶剂表面接触角。

显然，流动相移动速率和固定相结构（d_p）及流动相性质（η、θ 和 γ）有关。

流动相移动线速度 U 与薄层板和流动相特性之间的关系为

$$U=\frac{dd_t}{dt}=\frac{k_0 d_t}{\eta d_m}\cos\theta-d_m\left(\frac{d_p\rho g}{12}\right) \tag{8-3}$$

式中，ρ 为流动相密度，g 为重力常数。

高效 TLC 常采用低粘度、低密度溶剂和小颗粒、小空隙固定相，以加快流动相移动速度，缩短分析时间。

二、保留参数

1．比移值（R_f）

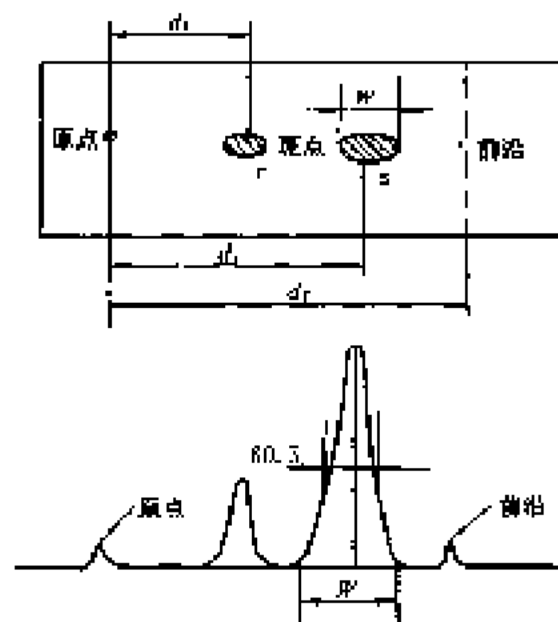


图 8-10 薄层色谱斑点及其扫描曲线的基本数据

保留因子是表征 TLC 图上斑点位置的基本参数，通常称为比移值（R_f），其定义为

$$R_f=\frac{d_s}{d_m} \tag{8-4}$$

式中，d_s 为样品原点到样品斑点质心间的距离（见图 8-10）。

2．相对比移值（R_{st}）

R_f 测量误差的主要来源是难以确定溶剂前沿的位置，因而引入相对比移值（R_{st}）

$$R_{st}=\frac{R_{f(i)}}{R_{f(st)}} \tag{8-5}$$

3．环形展开比移值

同一溶质按不同方式展开时，其比移值也有所不同，直线式展开与圆形向心展开、圆形离心展开后比移值之间的关系为

$$R_{f直} = R_{f圆} \tag{8-6}$$

$$R_{f(双)}=1-(1-R_{f(单)})^2 \tag{8-7}$$

4. n 次展开的比移值［$(R_f)_n$］

相同溶剂实行 n 次展开的比移值

$$(R_f)_n=1-(1-R_f)^n \tag{8-8}$$

式中，$(R_f)_n$ 为 n 次展开后的比移值；R_f 为第一次展开后的比移值。

直线展开组分完全不移动时，R_f 值为 0；如果组分在固定相中不保留而随流动相同步运行，则 R_f 值等于 1，因此式(8-4)的边界条件为 $0<R_f<1$。

5. 保留常数（R_m）

同系物在 TLC 液液分配中，R_f 差异较大，往往采用保留常数 R_m 表达。定义为

$$R_m=\lg\left(\frac{1}{R_f}-1\right) \tag{8-9}$$

R_m 具有加和性，对同一溶剂系统而言，$-CH_2-$ 基团的值 ΔR_m 为常数，及满足同系线性规律。

三、薄层色谱分离效能参数

同 HPLC 一样，TLC 的分离效能受流动相速率常数、组分在流动相中的扩散系数、薄层吸附剂的平均颗粒直径及其粒度分布等多种因素的影响，TLC 的分离效能参数可与溶质在薄层上的不同移动距离相关联，其数值量度能够通过 R_f 来估算。一般认为 TLC 中所有组分有相同的扩散系数，组分斑点的扩张（展宽）只是移动距离的函数。

1. 理论塔片数（N）

TLC 理论塔片数可表示为

$$N=16\left(\frac{d_s}{W}\right)^2 \tag{8-10}$$

式中，W 为斑点纵向宽度（峰宽）（见图 8-10）；d_s 为原点到组分斑点中心的距离。

结合式（8-4）有

$$N=16\left(\frac{R_f d_m}{W}\right)^2 \tag{8-11}$$

2. 理论塔片高度（H）

理论塔片高度可表示为

$$H=\frac{d_s}{N}=\frac{R_f d_m}{N} \tag{8-12}$$

3. 折合板高（h）

TLC 的折合板高，可由 Knox 方程表示

$$h=\frac{B}{v}+Av^{1/3}+Cv \tag{8-13}$$

式中，$v=Ud_p/D_m$，D_m 为溶质扩散系数；A 为片层质量项；B 为径向扩散项；C 为传质阻力项。

优质薄层的 A 项近似等于 1，C 项很小（0.01～0.03），平均塔片高度

$$\bar{H}=b(d_m+d_0)+a\left(\frac{d_m^{2/3}-d_f^{2/3}}{d_m-d_f}\right) \tag{8-14}$$

式中 d_0 为样品原点至溶剂水平面的距离。

4. 真实塔片数（N_r）与塔片高度（H_r）

考虑由静态扩散引起的起始斑点半峰宽的影响，引入真实塔片数

$$N_T = 5.54\left[\frac{d_s}{W_{1/2}-W_{1/2(0)}}\right]^2 \tag{8-15}$$

式中，$W_{1/2}$为组分的斑点半峰宽；$W_{1/2(0)}$为组分在点样原点处起始斑点的半峰宽。

真实塔片数是评价薄层分离效率常用的参数。

由式（8-15）可得

$$H_T = \frac{d_s}{N_T} \tag{8-16}$$

实验测得常规 TLC 板的 N_T 一般在 600 左右，H_T 为 30μm；而高效薄层色谱板的 N_T 近于 5000，H_T 约 12 μm。

四、容量因子与比移值的关系

容量因子 k' 定义为组分在固定相中的保留时间 t_s 与其在流动相中的保留时间 t_m 之比

$$k' = \frac{t_s}{t_m} \tag{8-17}$$

TLC 中溶质的 R_f 可视为保留值，根据定义有

$$R_f = \frac{t_m}{t_m + t_s} \tag{8-18}$$

结合式（8-17）和式（8-18）得

$$R_f = \frac{1}{1+k'} \tag{8-19}$$

五、分离评价参数

1．分离度（R）

在 TLC 图上两个组分斑点之间的分离度定义为

$$R = \frac{d_{s_1}-d_{s_2}}{W_1-W_2} \tag{8-20}$$

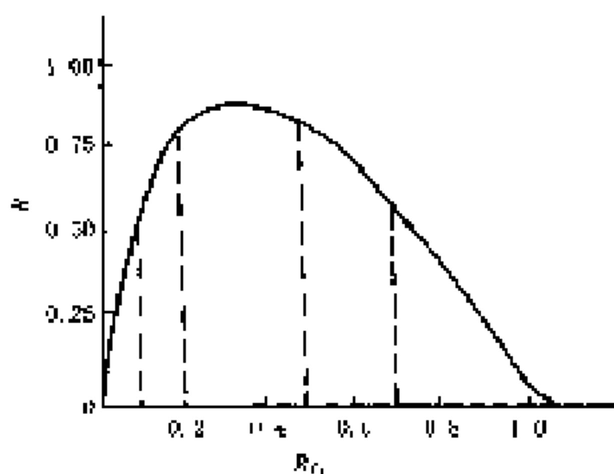


图 8-11　分离度和比移值的关系

$N=1000$，$R_f/R_f=1.34$

式中，d_{s_1}、d_{s_2}分别为组分斑点的移动距离（$d_{s_1}<d_{s_2}$）；W_1、W_2分别为两组分斑点纵向宽度（即峰底宽度），对相互靠近的两个组分斑点而言，$W_1 \approx W_2 \approx W$，又因为 $d_s = R_f d_m$，因此

$$R = d_m \cdot \frac{R_{f(1)} - R_{f(2)}}{W} = \frac{d_m}{W} \cdot \Delta R_f \tag{8-21}$$

合并式（8-9）与式（8-21）得

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{\Delta R_f}{R_{f(1)}} \tag{8-22}$$

由式（8-22）可以看出 TLC 中的分离度和比移值之间存在如图 8-11 的关系。显然，当 R_f 在 0.3 左右时，分离度达最大值，而 R_f 在 0.2～0.5 之间时，分离度改变不大；当 R_f 小于 0.1 或大于 0.7 时，分离度急剧下降。

2 分离数（S_N）

TLC中薄层对组分的分离程度也可以采用分离数S_N表示。其定义为采用恒组成流动相展开时，从样品原点到溶剂前沿之间能够容纳的完全分离开的峰个数。采用分离数可以较为客观地评价和比较色谱系统的分离能力。S_N定义为

$$S_N=\frac{d_n}{W_0+W_1}-1 \tag{8-23}$$

式中，W_0和W_1分别为实验测得的某组分色谱峰半峰宽对d_n作图外推得到的在原点处和溶剂前沿处的色谱峰半峰宽。HPTLC典型的S_N在10～20之间，而一般TLC法的S_N在7～10之间；二维展开HPTLC的S_N在100～250之间。

第三节 薄层色谱流动相与展开机制

一、薄层色谱流动相

（一）对流动相溶剂选择的基本考虑

薄层色谱流动相溶剂的选择对分离的影响很大。与HPLC同理，对复杂样品的分离能否得到理想的结果，流动相的选择是最重要的决定性因素。不同溶质与流动相分子、固定相分子间的作用力不同，因此其移动速度也不同，最终导致样品中各组分的分离。对流动相的选择不仅需考虑极性、选择性等因素，更基本地应注意以下因素的影响：

① 溶剂纯度，含有杂质影响分离。

② 溶剂吸收环境水分，会使极性等性质改变。

③ 存放条件不适宜或贮存时间过长，溶剂会变性。

④ 混合流动相之间发生作用会使溶剂性质改变。

⑤ 溶剂极易挥发，流动相组成随时间改变。

（二）溶剂强度参数

溶剂强度参数ε_0定义为溶剂被单位标准吸附剂吸附时的吸附能。在吸附TLC中，流动相的ε_0数值越高，溶质的R_f越大。单一溶剂洗脱，使组分的R_f在0.3～0.7的范围内较理想。实际上，一般很难使样品中的所有组分皆具有合适的R_f，因此在选择流动相溶剂时，既要考虑溶质间的分离，也需考虑组分的移动性。

溶剂强度也可简单的用其在水中的溶解度参数δ或溶剂极性参数P'来表示。对于分配TLC而言，可用P'和δ估算溶剂强度，而在吸附TLC中，以ε_0来估算溶剂强度更近于实际。常用溶剂的P'、δ和ε_0可在表2-1中查得。

ε_0越大的流动相溶剂被固定相吸附也越强，溶剂强度变化，导致溶质容量因子的改变，一般地，P'改变两个单位，k'将有近10倍的改变。正相色谱中，k'与P'之间的关系为

$$\lg(k_2'/k_1')=\frac{P_1'-P_2'}{2} \tag{8-24}$$

在反相色谱中，则有

$$\lg(k_2'/k_1')=\frac{P_2'-P_1'}{2} \tag{8-25}$$

式中，P_1'是一种溶剂的溶剂强度；P_2'是另一种溶剂的溶剂强度。显然，反相色谱中，若$P_2'>P_1'$，则$k_2'<k_1'$，而在正相色谱中正相反。

采用单一溶剂得不到满意的分离结果时，常采用二元或多元混合流动相来调节溶剂强度，

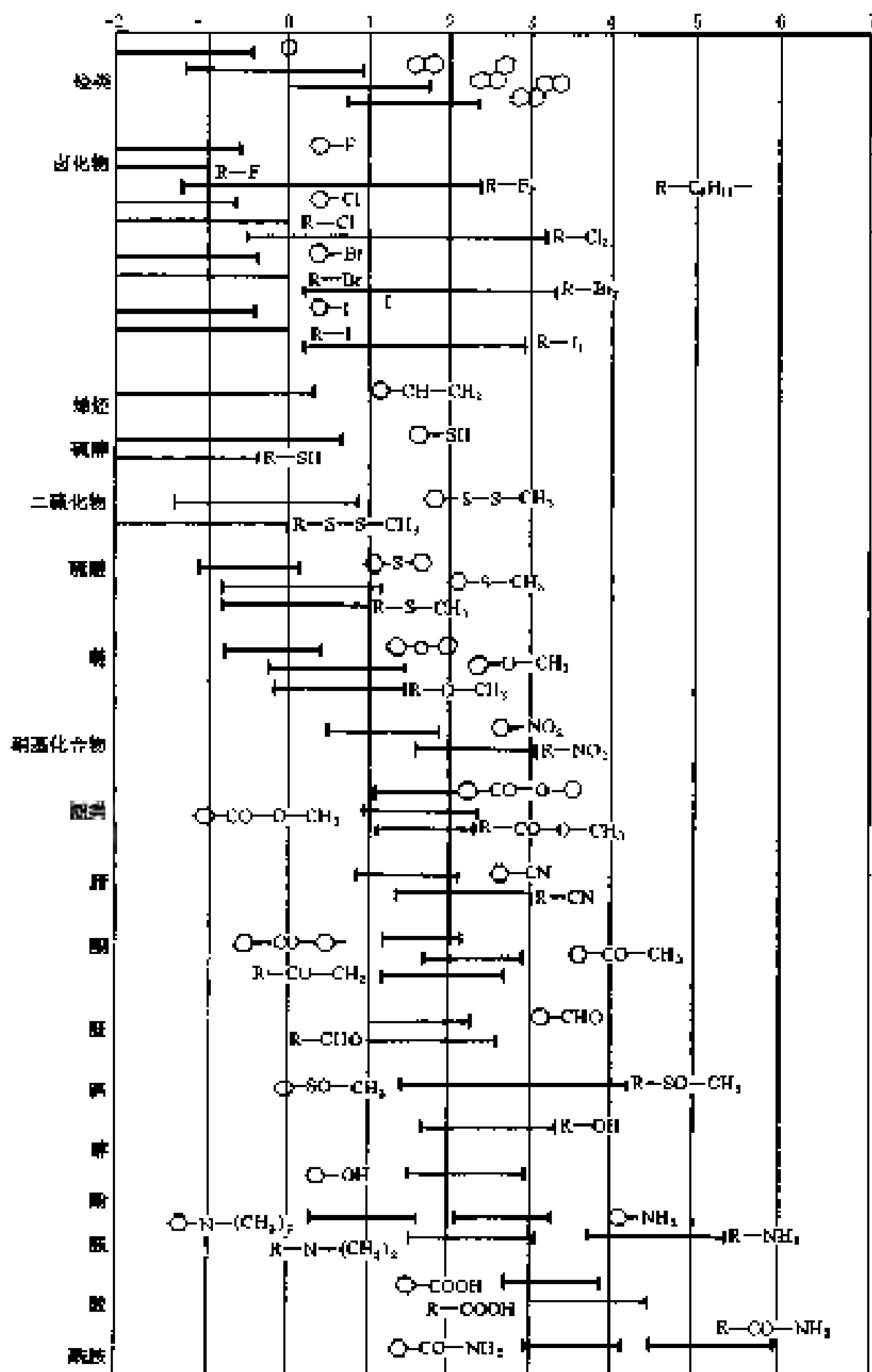


图 6-12 硅胶上一些化合物的 E_1 值范围

使不同性质的组分与流动相中不同溶剂发生相应的作用，产生选择性差别，达到分离的目的。将强溶剂 A 和弱溶剂 B 按不同比例相混合，则可得到一系列中等溶剂强度的流动相。

（三）溶剂的选择性

溶剂的选择性是指溶剂引起两种组分位移差别的能力。对分离的能力，或者说引起两溶质分离度的大小影响的能力。在 TLC 中更重要的是选择流动相，它比柱色谱具有更大的灵活性和自由度。

TLC 的方法建立，应使 k' 小于 10，当 $k'>10$ 时，溶质扩散严重，分离变差。k' 在 1～10 之间，R_f 大约在 0.1～0.7 之间，是 TLC 的适宜范围。Sanders 把某一组分 $k'=3$ 时的溶剂强度定义为该组分的 ε_0 值。图 8-12 给出的硅胶薄层板上一些化合物的 ε_0 值范围，由该图得到 ε_0 值后，再参考图 8-13 的溶剂选择性即可以确定适合的混合溶剂组成。每个 ε_0 值都对应有多种溶剂供选择，以下规则可提供帮助。

① 增加溶剂强度 ε_0，使 R_f 增大，但有可能使分离能力降低，反之亦然。

② 流动相中较强溶剂的体积比小于 5%或大于 50%时，选择性较大。

③ 用乙醚或甲醇代替流动相中的强溶剂，由于形成氢键往往可以改善选择性。

④ 若出现斑点拖尾，可向流动相中加入少量水或采用脱活薄层。

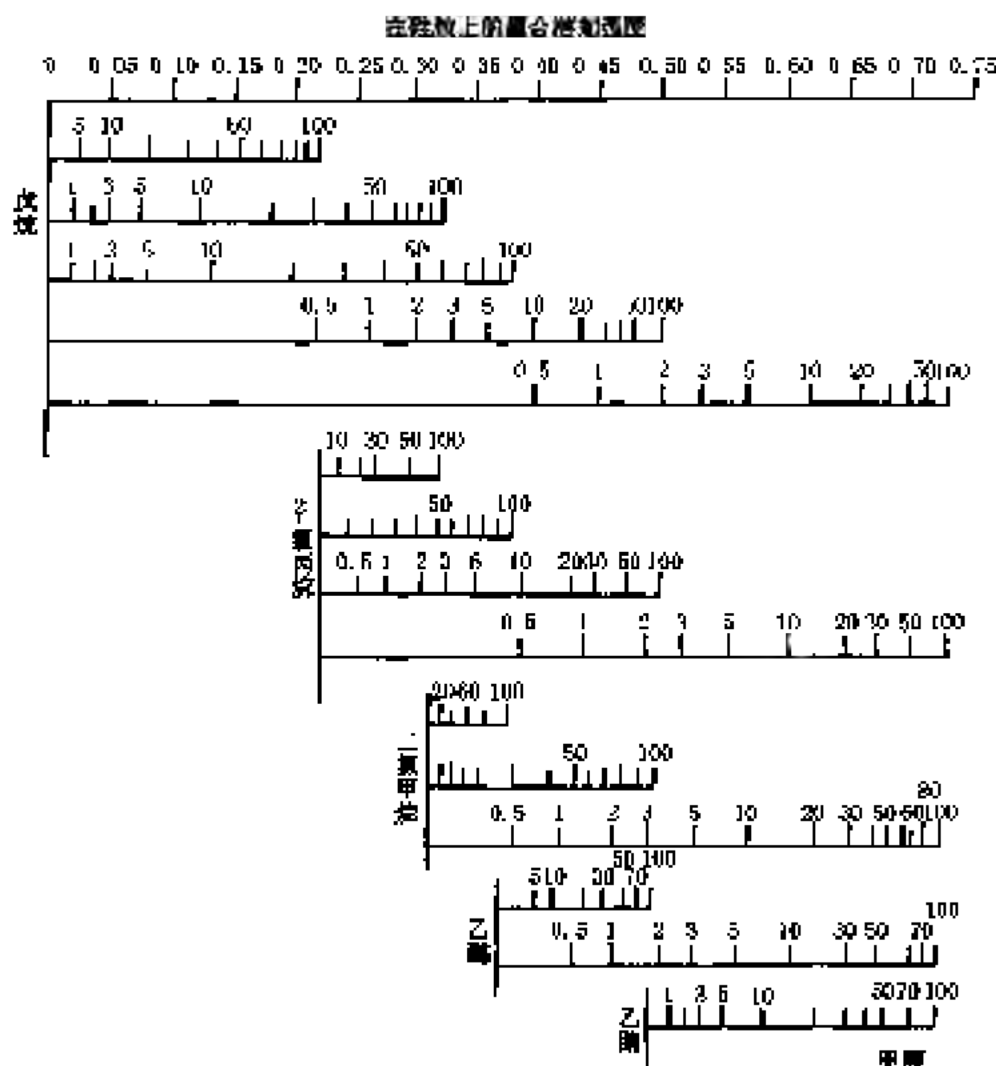


图 8-13 混合溶剂在硅胶上的强度

⑤ 采用两种较强溶剂和一种弱溶剂，组成三元流动相，效果往往较佳。

根据溶剂形成强分子间作用力（如氢键力、偶极力等）的能力，可以将常用溶剂分成不同类（见表 8-7）。每一类中的溶剂选择性相似，而不同类中溶剂的选择性差别较大。有人[9]采用模糊聚类分析方法优选和分类，表 8-8 也给出了采用这种方法对 21 种常用溶剂的归类结果。

表 8-7 溶剂选择性分类

分 类	溶 剂	说 明
Ⅰ	脂肪醚	质子接受体
Ⅱ	脂肪醇	质子接受-给予体
Ⅲ	吡啶衍生物，四氢呋喃	质子接受体-易极化
Ⅳ	乙二醇、苄醇、乙酸、甲酰胺	质子给予体
Ⅴ	二氯甲烷、二氯乙烷	大偶极矩
Ⅵ	脂肪酮、酯、二氧六环	—
Ⅶ	芳烃、芳醚、硝基苯	—
Ⅷ	氟代醇、氯仿、水	质子给予体

表 8-8 模糊聚类分析法对常用溶剂选择性的分类结果

分 类	溶 剂	说 明
Ⅰ	乙醚、硝基乙烷	质子接受体
	氯苯、丙酮、乙酸乙酯、甲氧呋喃、甲苯	质子给予体
Ⅱ	甲醇、乙醇、异丙醇、正丁醇	质子接受-给予体
Ⅲ	冰醋酸、水	质子给予体
Ⅳ	乙腈、三乙胺	质子接受体
Ⅴ	氯仿、1，2-二氯乙烷、二氯甲烷	大偶极矩
Ⅵ	正己烷、环己烷、四氯化碳	-

二、几种常用薄层色谱分离模式的展开机制

（一）液固吸附展开

在 TLC 分离中，液固展开是一种最经典的展开方式，至今仍是应用最为广泛的方法。液固展开常用极性吸附硅胶、氧化铝等做固定相，流动相依其极性可在吸附剂表面形成单分子或双分子溶剂吸附层，展开过程中，组分的保留及分离选择性主要由以下三种因素决定：

① 溶剂对样品的溶解能力；

② 溶质和流动相分子对固定相表面活性吸附位点的竞争；

③ 溶质分子与吸附剂表面上吸附中心间的特殊分子间作用力（偶极力、诱导力、氢键力、形成 π 键络合物等）。

溶质吸附作用的强弱与吸附剂比表面积及吸附分子层厚度有关，也与溶质分子的净吸附能力有关。

（二）液液分配展开

与液液分配柱色谱分离机理相同，组分在互不相溶的两液相中的溶解度不同，因此迁移速率存在差异，在迁移过程中得到分离。纸色谱和纤维素薄层上的展开主要是分配过程，其固定相为来自大气中的水。通常分配薄层色谱是将薄层浸渍入到固定液中，使固定液在薄层中充分润湿。为防止固定液流失，可预先用固定液饱和流动相。在实际 TLC 分析中，吸附和分配过程往往并存，哪种分离机制占主导地位取决于固定液用量，形成液液分配体系的前提

是固定液不溶于流动相，这样在很大程度上限制了固定液的选择范围。一般选用强极性的甲酰胺、乙二醇、丙二醇、聚乙二醇等作为固定液，而流动相采用非极性的烃类，或加入少量的卤代烷、四氢呋喃等，形成正相液液分配系统。如采用非极性固定液（石蜡油、硅酮油、正构烷烃等）和极性流动相，则形成反相液液分配系统。

（三）化学键合相展开

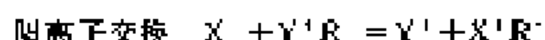
溶质分子在反相化学键合相系统展开时，溶质的保留机制类似于分配作用。反相化学键合相表面基团呈亲脂性，可用水、甲醇-水、乙腈-水、水-亲水有机溶剂等作为流动相。调节流动相 pH，能够改善可解离样品的分离，在流动相中加入适量酸或碱，也有利于酸性或碱性溶质选择性分离。当水的比例加大时，固定相可能会出现水消胀现象，加入适量盐（NaCl 或 $CaCl_2$）可以缓解这种作用。

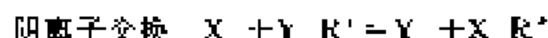
对于键合有氨基、氰基或二羟基等极性基团的化学键合相，流动相可选择非极性或弱极性溶剂，有时也可加入适量中等极性或较强极性溶剂，对于强极性化合物糖类和多肽类等样品的分离，甚至可以采用极性溶剂，如乙腈-水体系，作流动相形成反相分离体系。可以认为溶质在正相化学键合固定相上的分离机制中包含有吸附和分配两种作用，当流动相极性较弱时，吸附作用占主导地位，而流动相极性较强时，可以将有机键合层看作固定相液膜，分配作用占主导地位。

（四）离子交换展开

离子交换薄层色谱通过固定相表面的带电基团、样品离子和流动相离子之间的可逆交换、离子-偶极作用及吸附作用，实现离子化合物的展开分离。

溶质离子 X 和流动相离子 Y 与固定相基团 R 之间的离子交换可以表示为


阳离子交换　$X^+ + Y^+R^- = Y^+ + X^+R^-$


阴离子交换　$X^- + Y^-R^+ = Y^- + X^-R^+$

离子交换平衡常数的大小一方面可以反映两种离子交换剂对同一种溶质的亲和能力，另一方面也可以反映固定相交换剂对不同溶质离子的分离能力，平衡常数越大，选择性分离越好。溶质离解、水解、溶剂化或络合等其他平衡也会影响溶质的交换平衡，进一步影响到溶质的保留行为。

第四节　薄层色谱固定相

一、吸附剂与载体的选择

对薄层色谱对吸附剂的要求为：

① 具有大的表面积与足够的吸附能力；

② 对不同的组分有不同的吸附性，因而能较好的分离不同的化学组分；

③ 在所用的溶剂和展开剂中不溶解；

④ 不与试样中各组分、溶剂、展开剂起化学反应或破坏、分解作用；

⑤ 颗料均匀，在使用过程中不会碎裂；

⑥ 具有可逆的吸附性，既能吸附样品组分，又易于解吸；

⑦ 为便于观察分离结果，最好是白色固体。

目前最常用的吸附剂是硅胶和氧化铝，其次是聚酰胺、硅酸镁等，还有一些物质，如氧化钙（镁）、氢氧化钙（镁）、硫酸钙（镁）、磷酸钙（镁）、淀粉、蔗糖等，或因碱性太大或

吸附性太弱，用途有限。活性炭的吸附性太强，本身又是黑色，故很少用于色谱分离。

分配色谱对所用载体的要求为：

① 表面积大；

② 在展开剂中不溶解，与展开剂和样品组分不起化学反应或分解作用；

③ 对样品组分无吸附性或吸附性极弱；

④ 对固定液是惰性的。

纤维素和硅藻土是薄层色谱最常用载体。离子交换纤维素和葡聚糖凝胶制成的薄层色谱板主要用于分离蛋白质、核酸、酶、糖等样品。吸附剂、载体的选择，主要取决于样品的溶解度（水溶或脂溶）、酸碱性、极性等性质。此外，也应考虑吸附剂、载体是否易得及价格等因素。

二、常用吸附剂的性质

（一）硅胶

硅胶是最常用的吸附剂。在硅酸钠的水溶液中加入盐酸可以得到胶状缩水硅胶（$SiO_2 \cdot xH_2O$）沉淀。缩水硅胶进一步脱水即形成多孔性硅胶，可作为吸附剂或脱色剂。硅胶的孔结构决定了其吸附能力，表 8-9 给出了 TLC 法中常用硅胶的孔结构参数。典型的色谱用硅胶的表面积约 500 $m^2 \cdot g^{-1}$，孔体积约 0.4 $ml \cdot g^{-1}$，平均孔径为 100 nm。

表 8-9　一些常用硅胶的孔结构参数

硅胶类型	比表面积/$m^2 \cdot g^{-1}$	比孔体积/$ml \cdot g^{-1}$	平均孔径/nm	硅胶类型	比表面积/$m^2 \cdot g^{-1}$	比孔体积/$ml \cdot g^{-1}$	平均孔径/nm
1	675	0.68	4	4	500	0.75	6
2	462	0.46	1	5	415	0.73	8
3	550	0.82	6	6	420	1.05	10

硅胶的表面活性由表其面四面体结构所决定，表面被硅醇基（—Si—OH）或硅氧桥（—Si—O—Si—）所饱和。在吸附色谱中，硅胶表面硅醇基代表着可以与极性化合物或不饱和化合物形成氢键的表面活性中心。硅胶的吸附能力与其含水量有关，含水较多，大部分硅醇基被水饱和，从而减少了对其他组分分子的吸附能力。硅胶的吸附能力称为活度，通常分为五级，以 I 级为最强，V 级最弱。硅胶的活度与含水量的关系见表 8-10。

表 8-10　硅胶活度与含水量的关系

活度	含水量 w/%
I	0
II	5
III	15
IV	25
V	38

硅胶吸附水分在表面形成水合硅醇基（—Si—OH·OH_2），使吸附能力降低。将硅胶加热到 100℃ 左右时，水分能可逆地失去而使吸附活性增加，当游离水含量高达 17% 以上时，其吸附能力极低，只能作为分配色谱的载体使用。硅胶于 500℃ 加热能不可逆地失去结合水，使硅醇结构变成硅氧烷结构。若加热至 1100℃ 以上，则结合水尽失。由于硅胶的吸附能力主要与硅醇基数目有关，在较高的温度下羟基彼此相互作用而脱水，使表面活性降低，因此加热温度一般不要高于 170℃。

硅胶的吸附性能可用颗粒度（μm）、细孔直径（nm 或 μm）、细孔体积（$cm^3 \cdot g^{-1}$）、比表面积（$m^2 \cdot g^{-1}$）和密度（$g \cdot cm^{-3}$）表示。硅胶的水悬浮液（通常为 0.1 $g \cdot mL^{-1}$）的 pH 值及硅胶的纯度常对其吸附性能有较大影响。薄层色谱用硅胶的颗粒度常在（10～40）μm 范围，高效薄层色谱用硅胶常在（5～10）μm 范围。颗粒度小和颗粒分布范围窄可以大大提高薄层色谱

的检出灵敏度和分离度。分离度与吸附剂颗粒半径的平方成反比，100 μm左右颗粒制成的薄层板的理论塔板数为200左右，用小于20 μm的颗粒，理论塔板数可增至数千或更多。

（二）氧化铝

氧化铝是色谱法中常用的吸附剂之一，由氢氧化铝直接高温脱水制得。对氧化铝的表面吸附机理目前尚不清楚，有人认为氧化铝表面吸附外界水分形成铝羟基Al-OH，由于这些羟基的氢键作用而吸附其他化合物，因此氧化铝颗粒表面的吸附能力也与其含水量有关，一般根据含水量将氧化铝分为五级（见表8-11）。表8-12也列出了两种常用氧化铝的孔结构参数。

表8-11　氧化铝活度与含水量的关系

含水量/%	活性级
0	Ⅰ
3	Ⅱ
6	Ⅲ
10	Ⅳ
15	Ⅴ

表8-12　两种常用氧化铝的孔结构参数

氧化铝种类	比表面积/($m^2 \cdot g^{-1}$)	比孔体积/($ml \cdot g^{-1}$)	平均孔径/nm
1	200	0.3	6
2	70	0.2	15

根据性质的差异，氧化铝可以分为碱性氧化铝（pH＝9～10）、中性氧化铝（pH＝7～7.5）、酸性氧化铝（pH＝4～5）三种，根据分离的对象不同，可选用不同性质的氧化铝进行分离。

薄层色谱用氧化铝颗粒较细，一般在（150～250）目之间。若氧化铝碱性太高，可能引起样品的破坏或变化，碱性氧化铝能使许多物质发生碱催化反应，特别是经高温活化过的氧化铝，可对强酸性物质产生化学吸附，使酯、酐皂化，醛、酮缩合，双键改变位置。因此能与氧化铝发生反应的溶剂（如丙酮），不能作为溶剂与这种吸附剂一起使用。

（三）聚酰胺

聚酰胺是由酰胺聚合而成的高分子物质，薄层色谱中常用聚己内酰胺作为薄层材料。聚酰胺分子内存在着很多酰胺基，可与酚类、酸类、醌类及硝基化合物形成氢键，因而对这些化合物产生吸附作用。由于聚酰胺对各类化合物形成氢键的能力不同，所以对它们的吸附能力也不同。聚酰胺的吸附能力与下列因素有关：

① 可以形成氢键的基团数——形成氢键基团多者吸附力大。

② 形成氢键的位置——对位、间位使吸附力增大，邻位使吸附力减小。

③ 芳核、共轭双键的数目——芳核、共轭双键多者吸附力大。

④ 分子内氢键——能形成分子内氢键的化合物使吸附力减小。

此外，聚酰胺与各类化合物形成氢键的能力与与溶剂介质也有关。一般来讲在水中形成氢键的能力最强，在有机溶剂中形成氢键的能力较弱，在碱性溶剂中形成氢键的能力最弱，因此可以利用这些性质选择聚酰胺薄层色谱的流动相。

（四）纤维素

纤维素是构成大多数植物细胞壁的天然多糖类物质，其结构中葡萄糖环之间通过氧桥形成糖苷键，与淀粉一样可被酸完全降解为葡萄糖。纤维素链很长，基本上没有支链，在链与链之间估计有很强的氢键存在。

纤维素分子中带有许多羟基，因此其亲水性很强，能够吸收的水分可达自身质量的22%，其中大约6%的水分与纤维素结合成复合物，当用纤维素铺成薄层后，这些水形成了薄层的固定液，而流动相则因毛细管作用在薄层上移动，各组分因在两相间的不同分配而得到分离。此

外也可将纤维素作为载体，制成薄层板，再用甲酰胺、乙二醇等固定液处理后进行分配色谱分离。

纤维素可分为天然纤维素和微晶纤维素两类。

（1）天然纤维素　造纸工业中采用的优质纸浆是含有少量有机和无机杂质的天然纤维状纤维素的水的混合物，经干燥、粉碎后，即可作为薄层色谱用固定相。

（2）微晶纤维素　纤维素由排列比较规则的微小结晶区域（一般约占分子组成的85%以上）和分子杂乱排列的无定型区域（一般占15%以下）交连而成。当纤维素与盐酸一起加热水解时，分子中无定型区域大部分溶解，而其余部分则变成结晶型，结果便形成聚合度较低的微小结晶型纤维素即微晶纤维素。微晶纤维素用于薄层色谱，有良好的性能。

天然纤维素和微晶纤维素都具有较小的比表面积（$2\ m^2 \cdot g^{-1}$），用作液液分配薄层色谱的载体涂板时，因具有一定的粘着性，一般不需另加粘合剂。

（五）硅藻土

硅藻土是一种化学中性吸附剂，吸附能力很弱，常用作TLC法分配色谱载体。其物理、化学性质随其来源和地质环境的不同而存在差异，常用TLC纯化硅藻土的比表面积为（1～4）$m^2 \cdot g^{-1}$，比孔体积为（1～3）$ml \cdot g^{-1}$，平均孔径为（1000～10000）nm。其化学组成为：SiO_2、Al_2O_3、Fe_2O_3、TiO_2、CaO、MgO、Na_2O、K_2O等，其中SiO_2约占90%左右。

一般的硅藻土可用3 $mol \cdot L^{-1}$盐酸溶液处理，以除去可溶性杂质，再用蒸馏水洗到不含氯离子，在105℃烤干，过筛后即可应用。如含有机杂质再用甲醇、苯或氯仿等回流除去。

（六）葡萄糖凝胶

凝胶又称凝胶分子筛，可将分子大小和形状不同的物质分离，多用于蛋白质、多糖等大分子物质的分离提纯。葡聚糖凝胶由一定分子量的葡聚糖（右旋糖酐）悬浮于有机相中，加入交联剂交联聚合而成。

葡聚糖凝胶是白色珠状微粒，不溶于水、盐、碱和弱酸溶液，强酸能使它的糖苷键水解。葡聚糖凝胶具有立体多糖链的网状结构，孔隙大小与交联程度有关，加入不同比例的交联剂可以得到不同交联度的凝胶，交联度越小，网状结构越疏松，孔隙越大。由于其分子中具有许多亲水性羟基，故能吸水，吸水后体积膨胀而呈透明网眼张开，因而具有分子筛的功能。凝胶的交联度不同，其应用范围亦有所不同，交联度大、孔隙小的凝胶，可用于小分子量物质的分离，交联度小、孔隙大者则可用于分离分子量大的物质。商品凝胶的型号一般按交联度分类，多以“吸水量”或“膨胀量”表示，即每克干凝胶能够吸收水的量（ml），如G-25的吸水量每克为2.5 ml（型号为吸水量的10倍），表8-13列出不同交联度商品凝胶的吸水程度和应用范围。

表8-13　葡聚糖凝胶吸水量与应用范围

型号	分离范围（分子量）		吸水量/$ml \cdot g^{-1}$	膨胀体积/$ml \cdot g^{-1}$	浸泡时间/h	
	蛋白质	多糖			室温	沸水浴
G-10	<700	<700	1.0±0.1	2～3	3	1
G-15	<1500	<1500	1.5±0.2	2.5～3.5	3	1
G-25	1000～5000	100～5000	2.5±0.2	4～6	3	1
G-50	1500～3万	500～1万	5.0±0.3	9～11	3	1
G-75	3000～7万	1000～5万	7.5±0.5	12～15	24	3
G-100	4000～15万	1000～10万	10±1.0	15～20	72	5
G-150	5000～40万	1000～15万	15±1.5	20～30	72	5
G-200	5000～80万	1000～20万	20±1.0	30～40	72	5

用于薄层色谱的葡聚糖凝胶颗粒较细（小于 40μm）。因交联度大的凝胶不易铺板，因此最好使用交联度较小的凝胶（G-50 型以下），凝胶充分膨胀后，放置沉降，倾去上层水即可铺制薄层，不必加粘合剂。

（七）亲脂性葡聚糖凝胶

葡聚糖凝胶只能应用于水溶液或类水溶液，在葡聚糖分子上引入有机基团，可以增大其亲脂性，制成亲脂性葡聚糖凝胶。如既有亲水性又有亲脂性基团的 LH-20 型葡聚糖凝胶即为在 G-25 型凝胶上引入通过醚键与糖分子相连的羟丙基基团制得。这种凝胶可以在氯仿、丁醇、四氢呋喃、二氧六环等多种有机溶剂中膨胀后应用，但在苯、乙酸乙酯等溶剂中膨胀体积变化较小，较少应用。

亲脂性葡聚糖凝胶的应用方法与一般葡聚糖凝胶相仿，适于如黄酮、蒽醌、色素等有机样品的分离，所用洗脱剂的选择范围较广，包括含水的醇类或单一有机溶剂（如甲醇、氯仿等）、混合有机溶剂（如氯仿与甲醇的混合液），改变溶剂时，凝胶体积的变化可能会影响分离效果，所以在使用该种薄层板进行对比实验时，应采用使凝胶膨胀相同或相近的溶剂。表 8-14 给出常用溶剂与凝胶膨胀体积之间的关系。

表 8-14　LH-20 型葡聚糖凝胶在不同溶剂中的膨胀体积

溶　剂	膨胀后体积（$ml \cdot g^{-1}$ 干凝胶）	溶　剂	膨胀后体积（$ml \cdot g^{-1}$ 干凝胶）
二甲亚砜	4.4～4.6	乙　醇	3.6～3.9
吡　啶	4.2～4.4	异丁醇	3.6～3.9
水	4.0～4.4	甲酰胺	3.6～3.9
二甲基甲酰胺	3.9～4.3	二氯甲烷	3.5～3.8
甲　醇	3.8～4.1	丁　醇	3.4～3.6
二氯乙烷	3.8～4.1	异丙醇	3.3～3.6
氯　仿	3.7～4.0	四氢呋喃	3.3～3.6
丙　醇	3.6～3.9	二氧六环	3.2～3.5

（八）离子交换剂

离子交换剂通常为半合成或合成树脂，由较疏松的交联聚合物并联有阳离子或阴离子基团的网络组成，用于柱色谱的离子交换剂一般皆可以用于薄层色谱。凝胶离子交换剂具有离子交换剂性质，同时具有非特异性吸附很少等凝胶的优点，因此在生物化学、天然化合物方面得到广泛应用。离子交换纤维素、葡聚糖凝胶离子交换剂是薄层色谱中常用的两类离子交换剂。

离子交换纤维素是纤维素经化学反应后，使其分子中一部分羟基上的氢原子被阳离子或阴离子交换基团取代，或将纤维素浸入有离子交换性能的试剂（例如聚乙烯亚胺（$—CH_2—CH_2—NH—)_n$）后使具有离子交换性能。常用离子交换纤维素活性基团的结构、性质和交换容量见表 8-15。

表 8-15　常用离子交换纤维素的特征

名　称	离子交换基团	性　质	交换容量/($mmol \cdot g^{-1}$)
CM 纤维素	$—OCH_2COOH$	弱酸性	0.62±0.1
P 纤维素	$—OPO_3H_2$	中强酸性	0.8～0.9
SE 纤维素	$—OC_2H_4SO_3H$	强酸性	0.2～0.3
DEAE 纤维素	$—OC_2H_4N(C_2H_5)_2$	强碱性	0.4～0.65
TEAE 纤维素	$—OC_2H_4N^+(C_2H_5)_3$	中强碱性	0.55～0.75

续表

名　　称	离子交换基团	性　质	交换容量/(mmol·g⁻¹)
PAB 纤维素	$—OCH_2C_6H_4NH_2$	弱碱性	0.1~0.2
AE 纤维素	$—OC_2H_4NH_2$	弱碱性	0.3~0.4
Ecteola 纤维素	$—CH_2—CHOH—CH_2N^+(CH_2—CH_2OH)_3$	弱碱性	0.3~0.4
DE 纤维素	$—OC_2H_4N(C_2H_5)_2$	中强碱性	0.8±0.05
GE 纤维素	$—OC_2H_4NHC=NH_2NH_2—Cl^-$	强碱性	0.2~0.3
END 纤维素	$—OC_2H_4N(C_2H_5)_2$	中强碱性	0.8±0.05

葡聚糖凝胶离子交换剂是在葡聚糖凝胶（一般用 G 25 或 G 50 型）上引入羧甲基、磺乙基、磺丙基（SP，$—C_3H_6SO_3H$）、二乙基氨乙基等极性基团制成。这些离子交换剂在水、盐溶液、弱碱溶液、弱酸溶液及有机溶液中稳定，但在强酸溶液中水解，因此应避免在 pH 小于 2 的条件下操作。常用葡聚糖凝胶离子交换剂的性能及适宜的操作 pH 范围见表 8-16。

表 8-16　常用葡聚糖凝胶离子交换剂的性能

类　　型	性质	交换容量	操作 pH 范围	类　　型	性质	交换容量	操作 pH 范围
DEAE-Sephadex A-25	弱碱性	3~4	2~9	CM-Sephadex A-25	弱酸性	4~5	6~10
DEAE-Sephadex A-50	弱碱性	3~4	2~9	CM-Sephadex A-50	弱酸性	4~5	6~10
QAE-Sephadex A-25	强碱性	2.6~3.4	2~10	SP-Sephadex A-25	强酸性	2~2.6	2~10
QAE-Sephadex A-50	强碱性	2.6~3.4	2~10	SP-Sephadex A-50	强酸性	2~2.6	2~10

（九）多孔玻璃微球

将特殊的硼硅酸钠玻璃原料在(700~800)℃下加热，随后用酸液浸即可制得控制孔径的多孔玻璃微球(CPG)。热处理时可将玻璃分成连续而交错的两相，一相富含耐酸的二氧化硅，另一相主要成分为氧化硼，易被酸腐蚀。滤出硼酸相后，在内部可形成直径为（3~6）nm 的沟渠网状结构，进一步用适量苛性钠处理除去小孔内部某些含硅物质，可以使孔径扩大到 4.5~250 nm的范围。多孔玻璃微球不易受洗脱液类型、pH 值和离子强度变化的影响，保持孔径大小的一致性即能在色谱分离过程中得到良好的分离度和重现性。

在多孔玻璃微球的表面上含有在水溶液中呈弱负电荷的硅醇基，因而对某些蛋白质有非特异性吸附作用，未使用过的玻璃微球对多种酶，尤其对强碱性的酶有物理吸附作用，也能吸附中性蛋白质和某些病毒，但对大多数酸性蛋白质、多糖或核酸无吸附作用。

（十）反相键合硅胶

硅胶表面原硅醇基团，可与硅烷化试剂进行键合反应，从而使表面改性，得到键合硅胶，这种固定相克服了在载体表面涂覆非极性固定液（如液体石蜡）易流失的缺点，柱效高，性能稳定，并且可以制出带不同功能基团的键合相，以适用于非极性物质或强极性物质的分离。

硅烷化键合反应把非极性的不同碳链长度的烷基（通常为$—C_2H_5$，$—C_8H_{17}$和$—C_{18}H_{37}$）共价键合在硅胶表面的游离羟基上形成 Si—O—Si—C 键，反应需在无水条件下进行，以避免聚合层的生成。单分子层键合固定相在 pH＝1~9 范围内稳定，其分离性能取决于烷基碳链的长度和键合度。应用键合硅胶制成的高效薄层板(HPTLP)，可使极性较强的组分具有较大的 R_f 值。

三、吸附剂的活化与活度标定

色谱用吸附剂除了过筛、活化和标定活度之外，一般不必再经其他处理即可应用。过筛

的目的是控制吸附剂的颗粒大小，以求得到较好的分离效果。

（一）吸附剂的活化

氧化铝和硅胶等吸附剂表面能够可逆地吸附水分，由于这些水分占据了表面的活性位点，使得吸附剂对其他溶质的吸附能力减弱，因此必须在吸附剂被利用前将部分水分除去，以提高其吸附活性。这一过程称为吸附剂的活化。对于作为吸附剂的氧化铝、硅胶，活化可以提高在一定温度下烘烤完成，除去吸附水分，活化温度因吸附剂而异。

对特定样品的分离，吸附剂需要有适宜的吸附性能，太强或太弱都不利于分离。用于分配色谱的载体不应吸附被分离组分，所以不需要活化。

（二）吸附剂的活度及标定方法

吸附剂的吸附活性以吸附活度度量。活度，按 Brockmann 和 Schodder 法活度可分为Ⅰ～Ⅴ级，采用其他方法也有不同的分级标准。

1. 氧化铝活度的标定

通常用 Hermanek 法，此法可标定Ⅱ～Ⅴ级的氧化铝，绝对不含水的氧化铝为Ⅰ级。

称取偶氮苯 30 mg 及对甲氧基偶氮苯、苏丹黄、苏丹红（苏丹Ⅲ）和对氨基偶氮苯各 20 mg，溶于 50 ml 四氯化碳中，摇匀。取染料溶液 20 μl 点于待测活性的氧化铝薄层上，用四氯化碳展开后，测量 R_f 值，由表 8-17 确定氧化铝的活度级别。

表 8-17 氧化铝活度级别

染料	活度级别			
	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
偶氮苯	0.59	0.74	0.85	0.95
对甲氧基偶氮苯	0.16	0.49	0.69	0.89
苏丹黄	0.01	0.25	0.57	0.78
苏丹红	0.00	0.10	0.33	0.56
对氨基偶氮苯	0.00	0.03	0.08	0.19

另一种标定氧化铝活度的方法是将六种染料依极性大小编号：Ⅰ——偶氮苯；Ⅱ——对甲氧基偶氮苯；Ⅲ——苏丹黄；Ⅳ——苏丹红；Ⅴ——对氨基偶氮苯；Ⅵ——对羟基偶氮苯。分别把它们配成 0.04% 的干燥石油醚-苯（体积比为 4∶1）溶液，把溶液点在薄层板上，每种约（2～4）μg，用干燥石油醚［(60～90)℃］展开，展距为 10 cm，确定斑点中心移动距离在（1±0.5）cm 的染料，则吸附剂活度即为该染料对应的编号。例如对甲氧基偶氮苯的距离为（1±0.5）cm，则此吸附剂属Ⅱ级，而苏丹黄在这一距离时则为Ⅲ级，假使二者都在这一范围，则属Ⅱ-Ⅲ级。这种方法方便、快速，一般仅需（5～10）min。

2. 硅胶活度的标定

测定含粘合剂硅胶薄层的吸附活度，可按 Stahl 方法进行，取对二甲氨基偶氮苯（Ⅰ）、靛酚蓝（Ⅱ）、苏丹红（Ⅲ）三种染料各 10 mg，溶于 1 ml 氯仿中，将此溶液点于薄层板上，斑点直径为（1～2）mm，用正己烷-乙酸乙酯（体积比为 9∶1）展开，在（30～60）min 内溶剂爬行 10 cm 为宜。如三种染料能分开，而且Ⅰ走在前，Ⅱ在其次，Ⅲ在最后，则认为其活度合格，这种硅胶吸附剂活度与 Brockmann 法标定的Ⅱ级氧化铝活度相当。

硅胶的活度也可用柱上分离多种偶氮染料的方法进行测定。将偶氮苯（A）、对甲氧基偶氮苯（B）、苏丹黄（C）、苏丹红（D）、对氨基偶氮苯（E）、对羟基偶氮苯（F）各约 20 mg 溶于 10 ml 苯中，加 50 ml 石油醚稀释。取此溶液 10 ml，加到 1.5 cm×10 cm 的硅胶柱上，用苯-石油醚（体积比为 1∶4）20 ml 冲洗，流速（1.0～1.5）ml・min^{-1}，冲洗后观察染料的位置，由表 8-18 找出相应的活度（共分 10 级）。

对氧化铝标定的第二种方法也可以用于硅胶的标定。常用的氧化铝和硅胶吸附剂活度为Ⅰ～Ⅲ级，若活度太大，可加入适当水分使其活度降低。聚酰胺吸附剂的吸附性一般不特别加以标定。

表 8-18 硅胶活度级别

活度	I	IIa	IIb	IIIa	IIIb	IVa	IVb	IVc	V	VI
柱顶部	B		C		D		E		F	
柱中部		B		C		D		E		F
柱底部	A		B		C		D		E	
流出液		A		B		C		D		E

第五节 薄层色谱扫描仪

一、仪器结构

TLC 进行斑点测量一般采用光密度机械扫描仪。表 8-19 列出部分厂家生产的多种扫描仪型号和性能指标。

TLC 扫描仪结构主要包括光学元件组合系统、电子元件组合系统及机械元件组合系统。由于测光要求的不同，光学系统结构（图 8-14）又可分为透射式、反射式、单波长单光束、单波长双光束、双波长双光束等扫描仪器。主要由光源、单色器、斩波器、光电测量器等部分组成。

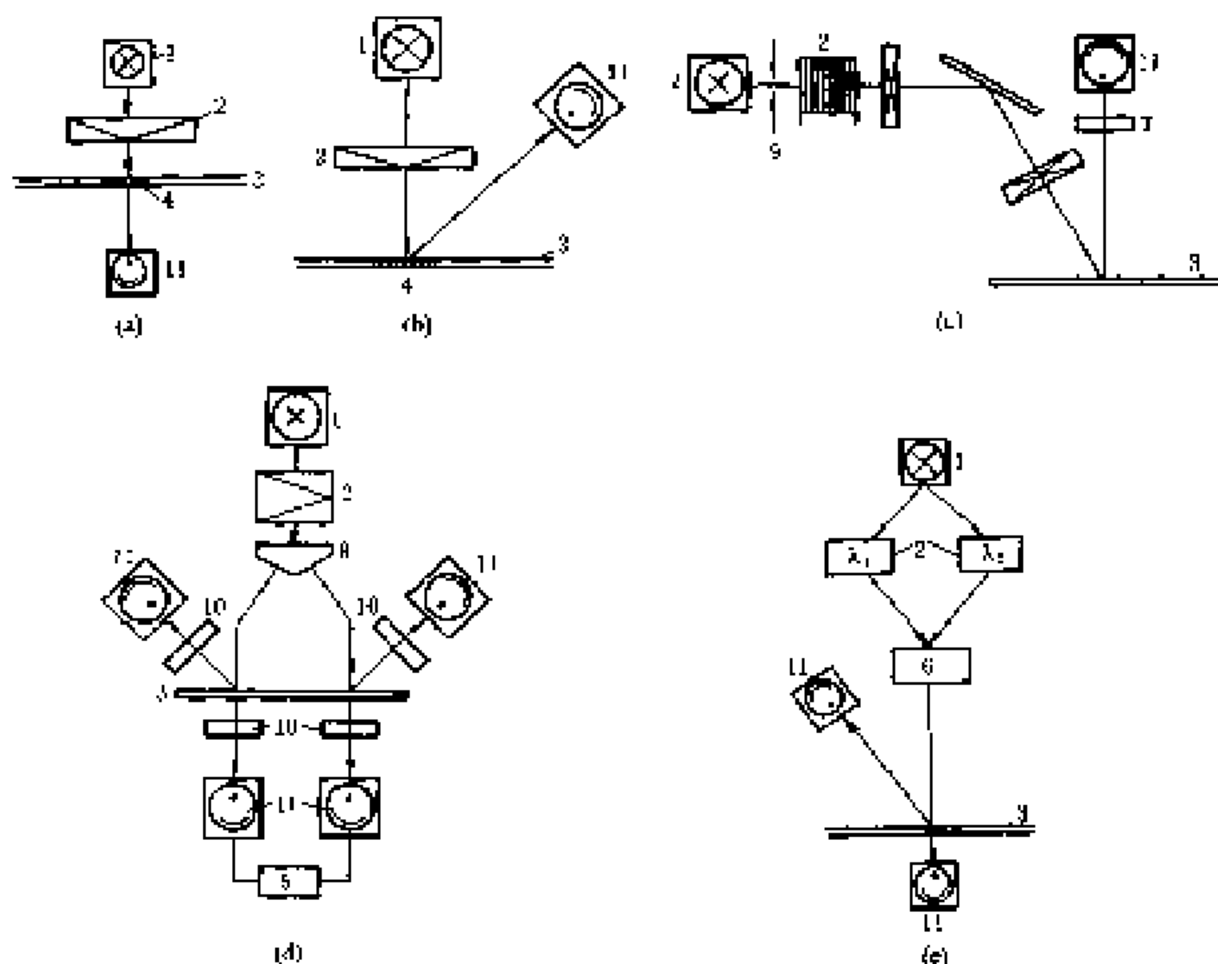


图 8-14 常用光路示意图

(a) 透射法扫描；(b) 反射法扫描；(c) 单光束单波长扫描；(d) 单光束双波长扫描；(e) 双光束双波长扫描

1—光源；2—单色器；3—薄层板；4—斑点；5—比例调节器；6—摇镜器；7—二级滤光片；

8—光路切分装置；9—狭缝；10—楔形补偿器；11—光电检测器

表8-19　几种常见薄层色谱扫描仪的主要性能

仪器型号和名称	CAMAG TLC/HPTLC 扫描仪	岛津 CS-910 双波长 TLC 扫描仪	CAMAG TLC 扫描仪Ⅱ型	岛津 CS-930 双波长 TLC 扫描仪	岛津 CS-9000 双波长飞点扫描仪	Zeiss 薄层色谱分光光度计	Schoeffel SD3000	Farrad UV-VIS 薄层色谱分析仪
波长范围/nm	200~800	200~800	200~800	200~700	200~700	200~2500	200~700	200~785
单色器	光栅、滤光片	光栅	光栅	光栅	光栅	棱镜	光栅	光栅
测量形式	反射、荧光	反射、透射、荧光	反射、透射、荧光	反射、透射、荧光	反射、透射、荧光	反射、透射、荧光	反射、透射、荧光	反射、荧光
光学系统	单波长单光束	双波长单光束，单波长双光束	单波长单光束，多波长单光束	单波长单光束，双波长双光束	双波长双光束	单波长单光束	单波长双光束	单波长双光束
光源	W灯(可见)、高压Hg灯[(254~578)nm]	D_2灯(紫外)、W灯(可见)、Hg或Xe灯(荧光)	D_2灯(紫外)、W灯(可见)、Hg或Xe灯(荧光)	D_2灯(紫外)、W灯(可见)、Hg或Xe灯(荧光)	W-I灯(可见)、D_2灯(紫外)	D_2灯(紫外)、W灯(可见)、Xe灯(荧光)	Xe灯、Hg灯	150W Xe灯
光束大小	0.5×(2~18)mm、0.3×(1~6)mm	(0~1.25)mm×(0~10)mm连续可调	(0.5~12)mm×(0.05~1.2)mm×(0.025~0.6)mm	(0.05~1.2)mm×(0.4~6)mm	锯齿型，0.05×1.5mm~0.4×0.4mm 直线型，0.4×2~1×15mm	(0.01~2)mm×15、12、10、8、7、6、3.5mm	0.2×10mm	1×30mm
扫描方式扫描速度	直线型 4、2、1、0.5mm/s	锯齿型或直线型 横向:20mm·s，纵向:(2.5~80)mm·s^{-1}五档	直线型(0.5~4)mm·s^{-1}(0.5~1)(°)·s^{-1}	锯齿型或直线型 锯齿型:20mm·min^{-1} 直线型:50mm·min	锯齿型或直线型 锯齿型:50mm·min^{-1} 直线型:55mm·min^{-1}	直线型 300、250、120、100、50、30、20、10、5、1mm·s^{-1}	直线型:3.4、1.7、0.85、0.42、0.21、0.11mm·s^{-1}	直线型:0.2~5mm·s^{-1}五档
自动变调	可	不可	可	可	可	不可	不可	不可
检测器	光电倍增管	光电倍增管	光电倍增管	二极管反馈系统	二极管反馈系统	光电倍增管	光电倍增管	光电倍增管
线性校正单元	无	有	无	有	有	无	无	无
基线校正单元	无	有	无	有	有	无	无	无
自动调零单元	无	无	有	有	有	无	无	无
数据处理和结果显示	外接计算机或记录仪	外接计算机或记录仪	记录仪、计算积分仪、计算机	在线微处理机记录	在线计算机记录	外接记录仪	外接积分仪或记录仪	外接数字积分仪或记录仪

二、主要功能

薄层色谱扫描仪主要用于TLC问被分离物质斑点和薄层空白的光学响应信号测量。要求仪器光源稳定，光波单色性能好，光波长范围在（200～800）nm，检测器灵敏度高（高信噪比）。用通用型扫描仪可进行吸光度测量、反射光测量、透射光测量及荧光测量，同时可给出光信号的准确数据。评价TLC扫描仪性能优劣，还要求仪器本身设计功能合理、齐全；操作者能方便有效地调节可变参数，如光狭缝大小，扫描速率、数据采集和数据处理等装置，达到快速、准确测量的目的。

第六节　薄层色谱定性定量方法

薄层色谱的检测方法可分为紫外光显示等物理方法、化学试剂反应显色等化学方法，以及酶与生物检出法、放射性检出法等几类。物理方法不破坏斑点物质的性质；化学方法则使斑点物质的性质发生永久性不可逆改变。

一、斑点定位

斑点定位必须采用非破坏性方法。当斑点紫外光显示时，可采用长波长和短波长紫外灯，使用方便、灵活。

采用化学试剂显色时，通过手动或电动（前者居多）喷雾器向展开好的薄层板喷洒显色试剂。除需要氮气源外，薄层板应置于喷雾箱中，以免将化学试剂喷洒到周围物品上。化学显色的另一种方法是采用化学试剂浸渍器，将薄层板浸入显色试剂中，可以通过浸渍深度、浸渍时间、显色试剂溶液用量等控制显色。显色反应速度过慢时，常采用加热显色措施，这样需增设电加热及其控制设备。一般加热至100℃，半小时为宜。对于特殊的显色技术，有时可能需要更高的温度和更长时间，但应注意薄层板涂层性质的变化，防止损伤。斑点检测可以采用专用薄层色谱光密度扫描仪。

1. 碘蒸气法

碘晶体在密封显色缸中升华为蒸气，使展开好的薄层板产生亮棕色斑点。切记薄层板放入碘显色缸中的时间不能过长，否则有些组分可能与碘作用而产生不可逆反应或衍生化反应。同时，吸附剂层也可吸附碘，使斑点信噪比降低。

碘显色也可用挥发性小的溶剂配制成1%的碘溶液，喷洒到薄层板上进行显色，其效果与晶体碘蒸气显色相当。

碘显色方法还可以与其他检测技术相结合。例如，检测脂类化合物时，先用罗丹明6G溶液浸渍薄层板，点样、展开后，在碘蒸气中放置（2～5）min，然后用紫外光照射薄层板，可显出很强的蓝色斑点。该方法检测灵敏度高于其他任何一种单独检测方法，也不破坏被测物质。

2. 化学显色法

化学显色法是TLC目前使用最为广泛的方法，采用特殊化学试剂与被测组分在薄层板上发生反应生成有色化合物，进一步根据斑点的性质定性、定量。化学显色法不可逆地破坏被测物质。

3. 水斑点显示方法

水可以作为非破损性显色试剂。向展开好薄层板喷水后，疏水化合物斑点便呈现白色，而

背景半透明。此方法可用于甾族化合物、环醇、烃类和胆酸等样品的显色。

4. pH 指示剂斑点显示方法

酸性或碱性样品可选用 pH 指示剂作显色剂。常用溴甲酚绿和溴酚蓝检测。

5. 荧光显示技术

薄层板中的荧光指示剂或能产生荧光的组分，在紫外短波长光激发下能发射较长波长的可见光。常用荧光衍生化技术将非荧光物质转化为荧光衍生物进行检测。

6. 生物检出法

生物检出法又称生物自显影法，是测定具有生物效应样品（如抗生素）的有效方法。基于检出物质的生物活性，将薄层板与已培养有适当微生物的琼脂表面接触，并置于适宜温度的培养箱中，经过一段时间后观察抑菌点，在有抗生素的位置微生物生长受到抑制，由抑菌点可以对抗生素组分定位。

7. 放射显影法

放射显影法就是含放射性同位素的化合物在薄层上显示位置的方法。一般将特制的底片与薄层板接触，放射性位置斑点使底片曝光，由于底片的暗度与斑点中放射性物质的浓度成正比，因此，这种方法不仅可以定位，而且也可以定量。

二、定 性 方 法

色谱分析法定性能力远小于分离能力，TLC 也是如此。TLC 能提供的参数只有 R_f 可以提供定性信息，但也只能作为相对依据。为提高定性可靠性，TLC 经常利用保留值与化学反应、选择性检测、联用技术相结合的方法进行定性。

（一）利用保留值定性

在特定的色谱系统中，化合物的 R_f 值一定。比较未知物和标准物的 R_f 值，能够作为鉴定未知化合物的依据。R_f 值的准确测定受多方面因素的影响。文献中有时报道一些物质的"标准"R_f 值，由于对应的色谱条件很难重复，其参考价值不如气相色谱中保留指数那么重要。为了增加保留值定性的可靠性，必须通过改变色谱系统的选择性，重复测定同一化合物的保留值。在薄层色谱中，改变选择性不仅能够通过变换固定相，而且可以很容易地通过改变流动相来实现，如果在分离机理不同的色谱体系中，比较保留值仍然能得到肯定的结果，那么其可靠性将更大。因此，二维色谱在复杂未知混合物定性中起着重要作用。

R_m 值在一定程度上反映了物质的结构特征，同系物中亚甲基（$-CH_2-$）数目与其 R_m 值之间一般为线性关系。利用这种线性关联可以推测化合物的结构。在多种色谱体系中测定这种关联，将增加推测的可信性。此外，可以用 ΔR_m 值推测苯环上的取代基位置。在不同展开系统中衍生物与母体之间的 ΔR_m 值具有线性相关性。图 8-15 显示了酚衍生物在两种展开溶剂中与母体酚之间的 ΔR_m 值的线性相关性。由这种关系，能够鉴别苯环取代基。鉴别的可靠性依赖于实验数据（ΔR_m 值测定）的准确度和精确度。

（二）板上化学反应定性

板上化学反应定性主要有以下两种方式：

① 反应后生成特征颜色的化合物，借以鉴定反应物。

② 反应生成复杂的、无法鉴定组分的混合物，但可根据生成物的"指纹"特征加以鉴定。

可以实现并用来定性的板上化学反应，包括乙酰化、浓硫酸脱水、偶氮化、酯化、卤化、催化加氢、酸碱水解、异构化、硝化、氧化还原、热解和光化学反应等。在利用化学反应定

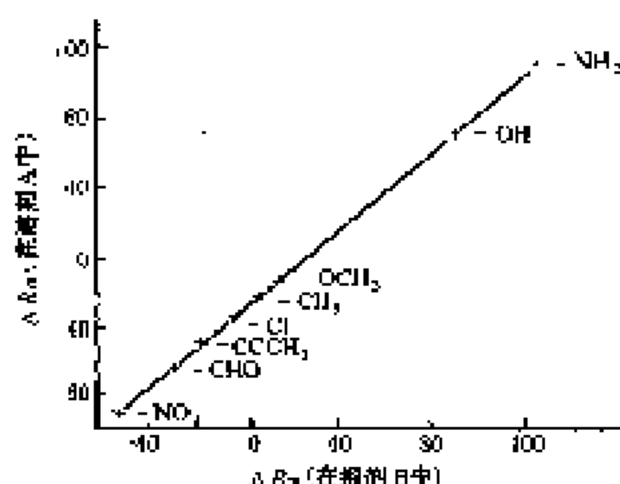


图6-15 在两种展开溶剂中酚衍生物与酚之间ΔR_m值的相关性

薄层板：硅胶

流动相：A—正己烷-苯-氯仿（体积比＝1∶1∶1）

B—环己烷-二氯甲烷-乙醚（体积比＝4∶1∶1）

性时，可以采用加热、辐射等手段，也可以通过喷雾方法施加反应试剂，还可以将反应试剂加载在固定相或流动相中。就色谱展开来说，可以在单向展开前或后实现化学反应，也可以在双向第一次展开前反应、两次展开之间反应或每次展开前反应，还可以多种方法同时进行，以获得多维信息。

板上化学反应定性与保留值定性相结合，能够进一步增加定性的可靠性。

（三）板上光谱定性

现代薄层色谱扫描仪一般都具有直接测定薄层板上斑点的紫外或可见吸收光谱图的功能，有的还能够记录荧光激发光谱图。只有利用平行点加的标准样斑点谱图进行对照，才可以进行板上光谱定性。随着薄层色谱技术的仪器化和自动化，很容易获得具有良好再现性的结果，这就有可能建立不同类化合物在标准条件下的板上光谱图库，并可用计算机检索定性，同时给出定性、定量及分离状况的直观信息（见图6-16）。图6-17是两种药物板上光谱图的计算机检索显示。因TLC的离线性和斑点的固定性，可对同一斑点以不同波长进行重复扫描，以获得更多的有用信息，对检测器的响应速度无特殊要求。

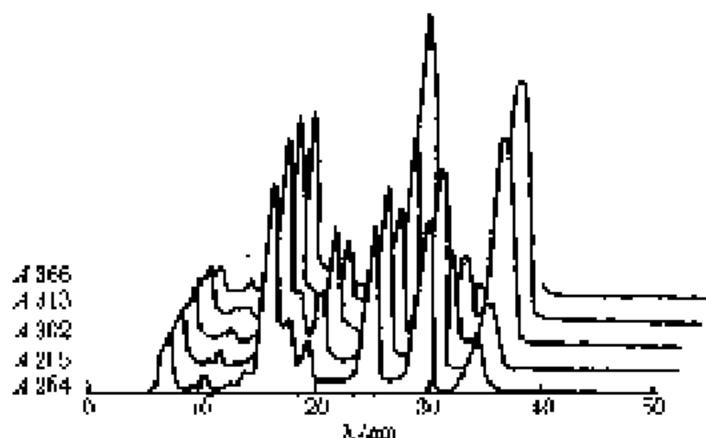


图6-16 几种磺胺类药物的三维薄层色谱扫描图

（四）TLC与其他联用技术间接联用定性

在联用方法中，TLC法是一种快速制取微量纯组分的技术。只要待测物具有一定化学稳定性，制备色谱（PTLC）是首选的制备方法。PTLC与TLC的原理、操作技术大致相同。PTLC常用直线展开法和离心展开法。PTLC用的薄层更厚一些，一般为（0.5～2.0）mm，其制备量为（10～500）mg。板尺寸为5 cm×20 cm，10 cm×20 cm，20 cm×20 cm，20 cm×40 cm等几种。若被分离物质为有色物质，则直接观察定位，若组分无颜色，但有紫外线吸收或能发射荧光，可在紫外光灯照射下或通过检测其荧光定位；如组分既无色又无紫外吸收时，则采用硅胶F254板展开，以荧光淬灭进行谱带定位。另一种定位方法是碘蒸气显色定位，定位

时要注意吸附显色的可逆性变化。上述方法均难以定位时，则须采用化学反应显色定位的方法。因化学反应显属破坏性方法，所以一定取一条展开薄层（此条与整板层间划剥隔离带）来喷洒显色试剂。剥离开的大部分薄层用玻璃板或硬纸板盖严，若显色反应需加热，必须将显色小条薄层板截下来，防止大部分板层因加热而样品制备的组分破坏。定位后，将斑点吸附剂小心转移到试管中。用适宜溶剂（尽量采用极性小的溶剂，如氯仿、丙酮、甲醇等）洗脱吸附剂上的组分，过滤洗脱液，洗涤2～3次后合并。去除溶剂（蒸发或气吹），残留物经洗涤或重结晶，得到纯物质。

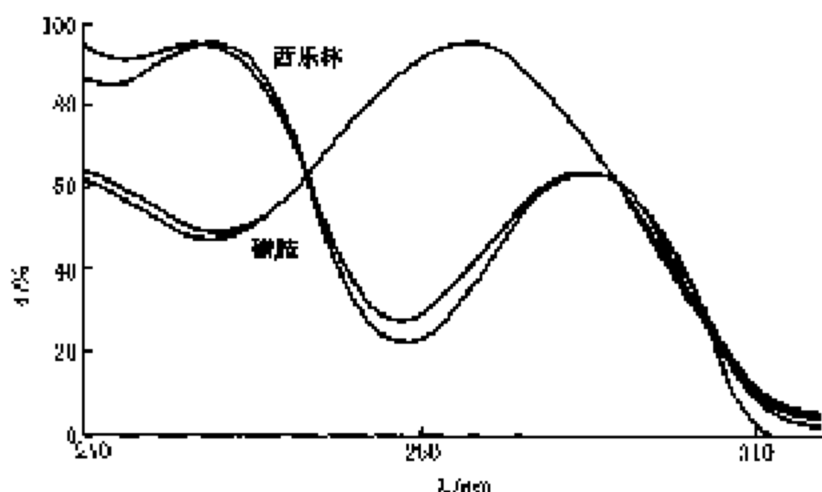


图8-17　板上紫外吸收光谱图的计算机检索

原则上说，通过物质结构特征进行鉴定的技术和方法，都可用于PTLC法所得纯组分的鉴定。但一般PTLC方法所得组分量很少，故应选用那些样品需要量较小、方法可靠性较强的定性技术，如MS和FIR技术较适合。制备组分量较大时，也可采用NMR方法或其他物理、化学方法。

（五）薄层色谱-傅里叶变换红外光谱联用定性

傅里叶变换红外光谱仪（FITR）具有快速扫描和很高的分辨能力，并且能够进行弱信号多次叠加，因而可被用来直接测定薄层色谱图上斑点的红外吸收光谱。目前，这种直接联用技术多采用漫反射法，此法要求红外光谱仪配有漫反射装置（如图8-18）。这种联用早期一般采用以铝箔为载板的薄层板。展开后，将物质斑点剪下，放在漫反射附件的样品支持架上，这

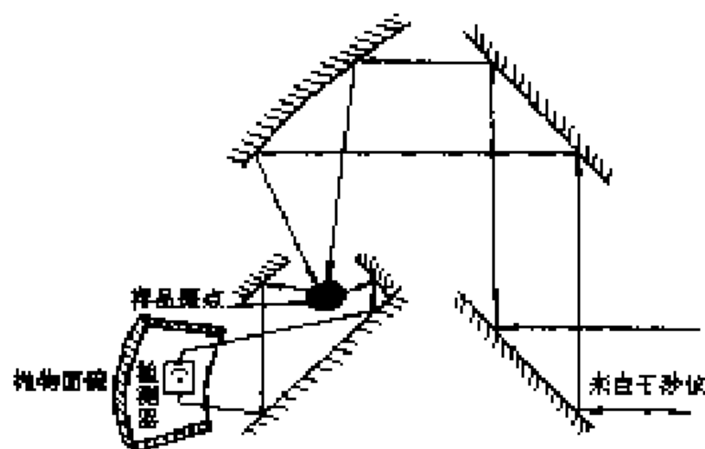


图8-18　傅里叶红外光谱仪的漫反射装置

种方法由于硅胶分质的存在而需要补偿，并且由于硅羟基易与样品分子形成氢键，而使待测物质的某些基团的吸收峰发生位移。

计算机能够自动将薄层背景的红外光谱扣除。利用这一技术，甚至能够得到未完全分离的物质的光谱图。

（六）薄层色谱-质谱联用定性

薄层色谱图斑点直接进行质谱分析的方法有两种，一种是将聚酰胺薄层板上的斑点（不经溶剂洗脱）直接刮入质谱仪石英探头中，放入离子源，当离子源升温至400℃以上时，聚酰胺仍仅有很低的背景信号，不致影响质谱解析。这一方法可以测定0.1 μg水平的酚类、核苷类、甾族化合物及氨基酸等。对薄层色谱斑点直接进行质谱分析的另一种方法是快原子轰击质谱分析法(FAB-MS)，用快速原子（如氩气等）撞击溶于低挥发性较低的溶剂（如甘油或硫甘油等）中的样品使之离子化。快速原子的能量较低，较容易产生M+H、M+Na^+和M+K^+等复合离子，以及M-H等比较简单的碎片离子。

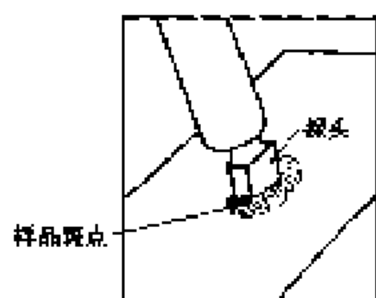


图8-19　快原子轰击质谱采样示意图

图8-19是快原子轰击质谱采样示意图。将采样探头（带有屏蔽装置）压在斑点上，转移斑点至探头，然后将（1～2）μl溶剂（甲醇或二氯甲烷）和（2～5）μl甘油或硫甘油等基础溶剂加到粘着在探头顶端的斑点吸附剂中，随即将探头插入质谱离子化装置进行分析。

三、定量方法

TLC定量分析广泛采用光度扫描法进行定量鉴定，其他常规方法也有相当多的应用。

（一）间接定量法

间接定量法就是将TLC已分离的物质斑点洗脱下来，再采用其他方法对该洗脱液进行定量分析。TLC间接定量的关键是斑点组分的定量洗脱。选用怎样的洗脱方法，取决于组分和薄层吸附剂的性质。用来洗脱组分斑点的溶剂，对下一步定量方法应无影响。使用分光光度法定量时，洗脱溶剂在测量波长下的吸光度应很小。

洗脱斑点组分时，可能将吸附剂中的杂质随之洗脱下来，增加定量误差。杂质包括吸附剂中原来含有的可溶解物质及吸附剂吸附的环境有机污染物（这类杂质可以在薄层点样前用甲醇或5%含有氨水的甲醇溶液进行预展开除去）。

（1）分光光度法　将洗脱下来的斑点洗脱液配制成标准体积，在同样条件下对样品和标准液进行吸光值测量，实现定量。为除去杂质影响，同时可进行空白洗脱液的吸光值测量。

（2）高效液相色谱法　以TLC法斑点洗脱液作HPLC法的样品，可以进行再分离和定量，这种联用经常被采用。

（3）气相色谱法　以TLC法斑点洗脱液直接做GC试样或将其衍生化后再进样，以GC对TLC所得样品再行分离、鉴定和定量分析，一般可以得到较好的定量结果。

（4）质谱法　采用组分质谱图中的特征离子峰可进行样品定量。

（二）直接定量法

TLC分离的组分斑点直接在板上进行定量，除扫描法外，也可采用下面两种方法进行估算。

（1）斑点面积测量法　以半透明纸扫下TLC图上的斑点界限，然后测量其面积。将斑点面积同平行操作的标准样面积相比较进行定量。这种定量方法简单，易行。系统误差可保持在3%～5%之间。但对分离不佳的斑点和痕量组分不适合。

（2）目测法　将被测样品和系列标准样品的溶液点在同一薄层板上，展开后用适当方法显色，可以得到系列斑点。将样品的斑点面积大小及颜色与标准系列的斑点相比较，可推测出样品的含量范围。这种定量方法非常适用于对常规大量样品的重复分析。如，化工和药物产品质量控制分析等。

（三）定量校正方法

同其他色谱定量校正方法类似，可以采用归一化法、内标法、外标法等多种校正方法对TLC定量结果进行校正。

1. 归一化法

同HPLC和GC一样，将样品中所有组分含量之和作为100%，计算其中某一组分含量。如果是同系物，校正因子相近时，组分i的质量百分含量（w）为

$$w_i=\frac{A_i}{\sum A_i}\times 100\% \tag{8-26}$$

式中，w_i表示组分i在样品中的质量百分数，A表示峰面积。采用该方法的前提条件是所有组分必须都得到分离，且校正因子已知，否则易产生较大误差。

2. 内标法

向样品中加入适当内标物，进行薄层色谱分析，再用该内标校正待测组分的含量。该方法克服了归一化法的缺点，只要待测组分显现就可以实现定量。采用该方法的条件是内标物在样品中可溶解，且不与样品中的任何组分发生化学反应，能与样品中各组分完全分开，内标斑点与待测组分斑点靠近。

内标法组分含量的计算公式为

$$m_i=m_s\frac{f_iA_i}{f_sA_s} \tag{8-27}$$

式中，m_i为待测样品中组分i斑点中组分i的含量，m_s为内标物斑点中内标物的含量，f_i、f_s分别为组分i和内标物s的相对质量校正子，A_i和A_s分别为i组分和内标物s的峰面积。

TLC中的相对质量校正因子由实验测得。采用含有内标物的待测组分标准溶液来校正测定含有内标物待测样品中组分的含量。将图8-20中所示两个斑的数据代入式（8-27），分别得到两个方程，整理得

$$m_{i,样品}=m_{i,标准}\frac{(A_i/A_s)_{样品}}{(A_i/A_s)_{标准}} \tag{8-28}$$

式（8-28）为TLC常用定量公式。

找不到适宜内标物时，可以样品中任一组分的纯品作为内标物，即可在样品溶液中加入待测组分纯品，比较加入前后的峰面积，加以定量。这种方法又称为叠加法（特殊内标法）。

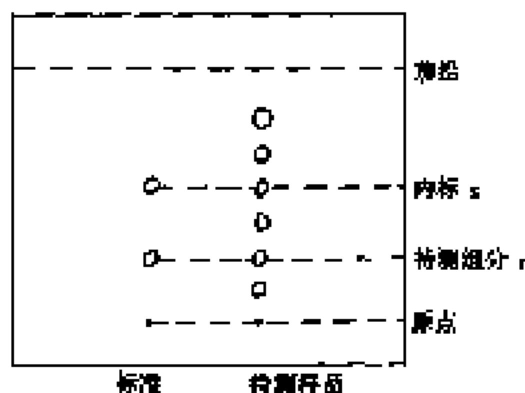


图8-20　内标法定量示意图

3. 外标法

外标法是薄层色谱法定量常用的校正方法。在相同分析条件下，比较标准样与相应的待

测组分谱图进行定量。待测样品溶液中组分 i 斑点含组分 i 的量（$m_{i,待测}$）可按下式计算得到

$$m_{i,待测}=m_{i,标准}=\frac{A_{i,待测}}{A_{i,标准}} \tag{8-29}$$

式中，$m_{i,标准}$ 为组分 i 标准溶液斑点中 i 组分的含量，$A_{i,标准}$ 和 $A_{i,待测}$ 分别为 i 组分标准溶液斑点和待测样品溶液色谱图上 i 组分斑点的峰面积。

外标法校正要求点样体积准确。此外，由于薄层色谱光密度扫描的线性范围一般较窄，应使标准样斑点中组分含量尽可能接近于相应的待测组分斑点中所含的组分量。与内标法一样，采用外标法校正定量时，也应尽可能使校正曲线通过坐标原点。只有在不得已的情况下，方可采用两点外标法，以便计算出校正曲线的截距。

第七节　纸　色　谱

一、纸色谱简述

纸色谱法是以纸为载体的液相色谱方法，操作时在长条滤纸的一端点上待分离的样品溶液，待溶液挥发后，将滤纸吊放在一个密闭的器内，使滤纸被流动相蒸气所饱和，然后使流动相自点有样品的一端通过毛细作用流向另一端，样品中各组分在迁移过程中逐渐得到分离。

纸色谱法属分配色谱。滤纸本身是惰性的，分离组分的过程中，只起载体的作用，真正固定相为与干滤纸纤维结合的水分，一般能够作为纸色谱载体的滤纸，其纤维吸收水分的质量可达自身质量的 20 倍以上，其中 6%左右的水分通过氢键与纤维素上的羟基结合，形成液液色谱中的固定液。

分离由不同组分在流动相和纸上水分间的分配不同所引起，因此在纸色谱中，组分在两相间的分配系数直接影响到分离结果。与薄层色谱相同，纸色谱和中，组分的移动情况可以采用比移值（R_f）来表示。

纸纤维有时也可能对某些化合物有吸附作用，甚至也会因其含有一些羟基而显示出有弱离子交换作用，从而使某些组分的 R_f 值与由分配系数计算所得的结果有所差别。通常的纸色谱都属于正相操作，即以有机溶剂为流动相，吸收在滤纸上的水分为固定相，但有时也将滤纸用极性较小的液体（如烃类）处理作为固定液，而以极性较大的含水溶剂为流动相，这种操作称为反相纸色谱法。

二、纸色谱技术

纸色谱法与薄层色谱法的基本操作相同，包括点样、展开、显斑定位等步骤。

（一）纸的准备

纸色谱法以滤纸为固定液载体，因此只需选择适合色谱分离用的滤纸，裁成适宜大小即可使用。在纸色谱法中，分离在滤纸条上进行，因此滤纸的特性是影响分离的重要因素，对纸的要求包括：

① 质地必须均一，厚薄均匀，纸应平整无折痕。否则会使流动相流速不匀，分离不规则。

② 纸纤维松紧程度适中。过于疏松，斑点易扩散；过于紧密，流速太慢，分析时间太长。

③ 适宜的厚度，使溶剂流动速度相当。滤纸太厚，流速慢，分析时间过长；太薄，则流动过快，分离不好。选择滤纸时应考虑所用流动相粘度，粘度大（如丁醇等）宜用较薄滤纸，粘度小（如己烷、氯仿等）则可用较厚滤纸。分离量较大或作制备用时也宜用较厚滤纸。

④ 有一定机械强度，不易断裂。以做成圆筒形被溶剂湿润后能站立不倒者为合格。

⑤ 纯度高，不含填充剂。灰分在0.01%以下，常见的金属离子杂质如铁、铜、钙、镁等含量不得过高，否则有时金属离子会与组分结合，影响分离效果，或出现其他斑点。

不同厂家、不同型号的滤纸，由于生产方法与条件不尽相同，吸收水分量也不相同，有时pH值也可能不同，因此虽按同一条件分离，同一组分的移动情况即R_f值会不完全相等，甚至有较大差别。所以在用纸色谱法进行定性鉴别时，应尽量将样品与已知标准品在同一张纸上进行展开，然后比较其R_f值，这样可避免由于纸的来源不同所引起的差别。此外，滤纸应保存在洁净的环境中，避免与各种化学物质及烟雾等接触。表8-20列出了几种国产滤纸的型号与性能。

表8-20　几种国产滤纸的型号与性能

型号	标重/(g·m⁻²)	厚度/mm	吸水性(30min内水上升高度,mm)	灰分/(g·m⁻²)	展开速度
1	90	0.17	120~150	0.08	快
2	90	0.16	90~120	0.08	中
3	90	0.15	60~90	0.08	慢
4	180	0.34	120~150	0.08	快
5	180	0.32	90~120	0.08	中
6	180	0.30	60~90	0.08	慢

（二）点样

在纸的一端约（1~3）cm处点上样品溶液，溶剂挥发后即可将纸放入槽内展开。

（三）展开

展开是使流动相溶剂沿滤纸从点有样品的一端向另一端流动的过程，在此过程中，样品中组分被流动相带动前移，并由于与固定相的亲和力不同而得到分离。一般进行纸色谱分离时，要先将滤纸用流动相蒸气饱和，通常约需数小时，展开时间也比薄层色谱长些，因此总的分析时间较长。

（四）定位

经上述展开至溶剂前沿到达纸的另一端时，即可将纸取出，待溶剂挥发后用适宜方法确定组分斑点的位置，如观察荧光，喷以溶剂使斑点显色。

（五）定量

确定斑点位置之后，即可对其进行定量测定，可以将有斑点的纸剪下，用适当溶剂将组分溶出，再以适宜方法测定。近年来由于光密度仪器的发展，已较广泛地用于纸色谱与薄层色谱斑点的定量测定，斑点不必洗脱，直接在光密度计上测量斑点的吸光值或荧光，并与标准品同样处理的结果进行比较，可以较快速、较准确地测定。

纸色谱法和薄层色谱法的操作大体相同。相比之下，薄层分离所需时间较短，分离能力强，斑点集中，因此检出灵敏度较高。纸色谱展开时间较长，分离后斑点分散，灵敏度不如薄层色谱。有些水溶性样品如糖、苷、氨基酸等用纸色谱法比用薄层法的分离效果好些。二者共有的优点是不需特殊设备，操作简便，可分析微克量的样品。在20世纪60年代以前，纸色谱法广泛用于生化、医药及其他方面的微量分离分析工作。近来，纸色谱已逐步被薄层色谱法取代，但在一些常规分析中仍有应用。

（六）固定相与流动相

纸色谱分离各类化合物的常用固定相和流动相见表8-21。

表6-21　纸色谱分离各类化合物的固定相及流动相[1]

化合物	固定相	展开剂
碳氢化合物类	1.5mol·L⁻¹氨水+0.75mol·L⁻¹碳酸铵（体积比=1:1）	正丁醇
	N,N-二甲基甲酰胺	己烷
醇类	5%液体石蜡	二甲基甲酰胺-甲醇-水（4:1:1）
	2%甲酰胺	己烷-苯（2:3）
		氯仿-乙醇（8:2）
醛类	硼酸、乙酸钠	正丁醇用水饱和
	甲酰胺	环己烷
	液体石蜡	甲醇-水（4:1）
		环己烷-氯仿-乙醇（6:20:0.6）
		丁醇-28%氨水（4:1）
含氧环状化合物类	—	乙酸-37%盐酸-水（30:2:10）
		用水饱和的甲酚-乙酸-水（50:2:48）
	0.1mol·L⁻¹磷酸氢二钠溶液	正丁醇-乙酸-水（4:1:5）
含氮化合物类	正十一烷	二甲基甲酰胺-甲酰胺（10:4）
	0.05mol·L⁻¹四硼酸钠溶液	苯-水（1:1）
糖类	—	酚用水饱和，加1%氨水
		乙酸乙酯-吡啶-水（2:1:5）
		正丁醇-乙酸-水（4:1:6）
有机酸类	—	正丁醇-1.5mol·L⁻¹氨水（1:1）
	75%甲酰胺	环己烷-苯（2:1）
	正十一烷	丙酮-乙酸-水（20:50:20）
	硅油	四氢呋喃-水（3:2）
		正丁醇-吡啶-二氧六环-水（14:4:1:1）
有机过氧化物及过氧酸类	20%乙二醇	乙醚-石油醚（5:95）
	乙酰化纸	乙酸乙酯-二氧六环-水（20:15:48）
酚类		苯-甲醇-水（2:1:1）
		己烷-叔丁醇-甲醇-水（100:45:45:40）
	甲酰胺	苯-氯仿（6:4）
酮类	—	石油醚-甲苯-甲醇-水（5:5:8:2）
	液体石蜡	甲醇
	氢氧化钠	苯
树脂及芳香胺类	甲酰胺	己烷-苯（4:1）
		氯仿
		正丙醇-5%碳酸氢盐（2:1）
硝基化合物	—	乙醇-乙酸-水（20:1:14）
氨基酸类	—	双向：1.酚用水饱和（氨气）
		2.正丁醇-乙酸-水（4:1:5）
肽及蛋白质类	—	酚用0.3%氨水饱和
		酚-正丁醇-乙酸-水（5:3:2:4）
嘌呤、嘧啶、核苷酸类	—	吡啶-水（4:1）
		甲醇-盐酸-水（7:2:1）
		丁醇-乙酸-水（4:1:5）
		酚-叔丁醇-乙酸-水（42:3:5:50）
		正丁醇用0.1mol·L⁻¹氨水饱和
生物碱类	—	乙酸乙酯-25%甲酸（4:1）
	0.2mol·L⁻¹乙酸缓冲液，pH7.5	叔戊醇-乙酸缓冲液（1:1）
	甲酰胺	甲苯-氯仿（6:4）
		正丁醇-乙酸-水（4:1:5）
		庚烷-丁酮（1:1）

续表

化合物	固定相	展开剂①
其他环状含氮化合物类	-	乙醇-氨水-水 (20:1:4)
		正丁醇-甲酸-水 (3:1:1)
有机硫化合物类	4%磷酸氢钠润湿	正丙醇-5%氨水 (2:1)
		正丁醇-乙醇-二乙胺-水 (90:10:0.1:97)
有机磷化合物类		甲醇-乙酸-水 (16:5:1)
	甲酰胺	正丁醇-乙酸-水 (4:1:5)
维生素类	—	正丁醇-酮-水 (30:160:100)
		异丁醇-吡啶-水-乙酸 (33:33:33:1)
		正丁醇-乙酸-水 (4:1:5)
抗生素类	0.3mol·L⁻¹磷酸缓冲液 pH3	正丁醇用 pH3 缓冲液饱和
		0.1mol·L⁻¹EDTA 二钠盐溶液 正丁醇-氨水 (4:1:5)
农药	20%冰乙酸溶液	己烷
	25%二甲基甲酰胺	石油醚
	5%橄榄油甲苯液	乙醇-水 (1:1)
色素	氯代烷	吡啶-水 (1:1)
	石蜡油	乙醇-水 (1:1)
		异戊醇-乙醇-氨水-水 (4:4:1:2)

① 括号内数据为混合溶剂中各组分的体积比。

参考文献

1 Stahl E. Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook. Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag, 1969
2 孙毓庆. 现代色谱法及其在医药中的应用. 北京: 人民卫生出版社, 1998
3 孙毓庆, 王延琮, 林乐明. 薄层色谱法在药物分析中的应用. 北京: 人民卫生出版社, 1989
4 Geiss F. Fundamentals of Thin-Layer Chromatography (Planar Chromatography). Huethig, Heidelberg, Basel, New York, 1987
5 Jaenchen D E. Instrumental Thin-Layer Chromatography. in Handbook of Thin-Layer Chromatography. New York, Ed by Sherma J, Fried B, Marcel Dekker, Inc. Publishers, 1990
6 Jork H, Funk W, Fischer W, et al. Thin-Layer Chromatography, Reagents and Detection Methods. Weinheim VCH Verlag, 1990
7 曹治权. 层析显色试剂手册. 北京: 中国商业出版社, 1986
8 何丽一. 平面色谱方法及应用. 北京: 化学工业出版社, 2000. 56

第九章　样品预处理

第一节　概　　述

样品制备是HPLC分析中必不可少的一部分，主要目的是使样品与所使用的HPLC方法相兼容，此外通过样品预处理可以相对除净损害色谱柱的物质、对试样进行预富集、消除与待测组分峰重叠的干扰组分、将待测组分转变为适于检测的形式，提高检测灵敏度和选择性。样品预处理包括样品采集、运输、储存、初步加工、实验室取样以及随后的称量、稀释等环节。表9-1中总结了样品预处理方法选择的一般规则。液相色谱方法的精密性与准确度往往决定于样品的预处理步骤[1,2]，本章主要介绍样品的提取及衍生化方法。

表9-1　样品预处理的选择[3]

预处理	说　　明
1) 样品的采集	采用统计学的程序获得有代表性的样品
2) 样品的贮藏与保存	用适宜的惰性、密封容器；要特别小心易挥发、不稳定或活性物质；生物样品有时需要冷冻
3) 样品的预加工	样品形式必须适于有效的样品预处理（如干燥、过筛、研磨等），细小的颗粒样品易于溶解或提取
4) 称量或定容操作	注意活性、不稳定或生物物质，稀释时，需用经校正的定量容器
5) 其他样品加工方法	溶剂取代、脱盐、蒸发、冷冻干燥等
6) 除去微粒	过滤，固相萃取，离心分离
7) 样品的提取	液体样品的提取，固体样品提取
8) 衍生化	主要用于增强被测物的被检测特性，有时用于改善分离

在进行液相色谱分析之前，必须把试样转化为溶液状态。此外，在样品预处理过程中，应注意：

① 在最终的液相色谱分离中，如果在接近死时间处存在过多干扰样品的组分，通常可以采用与液相色谱方法相似的分离体系进行预处理，如在硅胶上进行高效液相色谱分离之前，先进行低压硅胶柱分离以减少干扰。

② 样品干扰过多，并且是在接近欲测化合物的地方被洗脱时，最好采用与液相色谱不同的预分离方法来减少干扰（如在硅胶HPLC分析前进行萃取，或在反相液液HPLC之前进行低压硅胶分离）。

③ 除纯标准物质外，所有样品溶液进行液相色谱分析以前都应过滤。

液相色谱预处理用滤膜一般由纤维素四氟乙烯或尼龙制成，商品滤膜孔径有0.45μm、0.2μm等种类，不同滤膜的适用范围见表9-2。

表9-2　各种滤膜对溶剂的适应性①

溶　　剂	纤维素酯膜	聚四氟乙烯膜	尼龙-66膜
乙醇、二氧六环、二氯乙烷、乙醚、二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃	(—)	(—)	(+)
氯仿、环己烷、己烷、庚烷、2,2,4-三甲基戊烷	(+)	(—)	(+)
水、盐酸（$1mol\cdot L^{-1}$）	(+)	由于憎水性，水溶液难以通过	(+)
氢氧化钠（$5mol\cdot L^{-1}$）	(—)	由于憎水性，水溶液难以通过	(+)

① (+)—在该种溶剂中适用；(—)—在该种溶剂中不适用。

第二节 液液萃取

萃取操作有多种不同的方式，一般将粉碎的样品和溶剂一并放入适当的容器中，不断摇动，最后取上层清液作为液相色谱分析的样品。较难萃取的样品可以采用超声波振荡。另外，还可用多份同种溶剂或一系列不同溶剂对样品进行多次连续抽提使样品得到较彻底的萃取。对于较难萃取的样品也可使用热溶剂进行连续萃取（如索氏萃取）。

一、液液萃取基本操作

液液萃取操作中一相往往为水相，另一相为有机溶剂。亲水强的化合物进入极性的水相多，而疏水化合物将主要在有机溶剂中。萃取进有机相的被测物经溶剂挥发容易回收，而进入水相中的被测物则经常能够用于反相色谱直接进样。图 9-1 给出了液液萃取的基本操作框图。

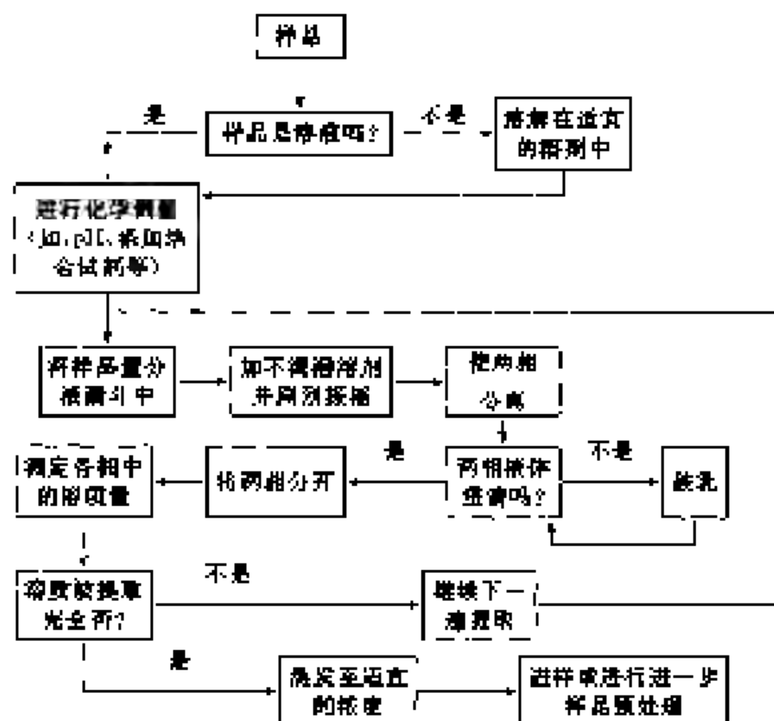


图 9-1 液液萃取步骤框图[1]

萃取为效率有限的平衡过程，两相中皆存在数量可观的被测物。萃取溶剂的极性、样品-溶剂混合液的 pH 值、溶剂和样品的相对体积、样品与溶剂的接触方式等会影响萃取效率。可利用改变 pH、离子对作用、络合作用等方法使萃取平衡移向有利于回收样品的方向移动，提高被测物的回收率。

二、液液萃取用有机溶剂

液液萃取中有机溶剂应具有挥发性，萃取后易于除去，且在水中的溶解度足够低（<10%），同时能与被测物的 HPLC 检测技术相容（避免使用 UV 吸收强的溶剂）。常用液液萃取溶剂的特征参见表 2-1，表 9-3 列出了常用溶剂的类别。

当溶剂的 P' 值和被分离组分的 P' 值相近时通常能得到最大程度的萃取，因此在萃取非极性或脂肪族化合物时，常使用正己烷（$P'=0.1$）、甲苯（$P'=2.4$）和乙醚（$P'=2.8$）等非极

性溶剂，另一方面，在萃取极性较强的化合物时，需要使用极性溶剂，如丙酮（$P=5.1$）、乙腈（$P=5.8$）、甲醇（$P=5.1$）或这些溶剂与水（$P=10.2$）的混合溶液。氯仿具有中等极性（$P=4.1$），通常被用来调节萃取溶剂的极性，改变样品溶剂体系的 pH 值常常会提高酸或碱的萃取效率。调节 pH 值既可以得到非离子型的样品组分（酸用低 pH 值，碱用高 pH 值），也可以得到离子型的样品组分（酸用高的 pH 值，碱用低的 pH 值）。在前一种情况下，常使用极性较弱的萃取溶剂（如用氯仿从植物组织中萃取碱性生物碱时，向样品中加入碱），对于离子型化合物的萃取，萃取溶剂通常是加有酸（或碱）的水（或醇-水混合溶剂），如用硫酸-水-乙醇的混合溶剂可使植物组织中的生物碱以盐的形式被萃取。

表 9-3 液液萃取溶剂分类①

水 溶 液	与水不混溶的有机溶剂	与水混溶的有机溶剂（不适于液液萃取）
纯 水	脂肪烃类(己烷、异辛烷、石油醚等)	醇类(低分子量的)
酸溶液	二乙基醚或其他醚	酮类(低分子量的)
碱溶液	二氯甲烷	醛类(低分子量的)
盐类(盐析作用)	氯 仿	羧酸类(低分子量的)
络合剂(离子交换、螯合、手性等)	乙酸乙酯和其他酯	乙 腈
	脂肪酮类(C_6 及以上酮)	二甲基亚砜
以上两种或多种混合	脂肪醇类(C_6 及以上醇)	二噁烷
	甲苯、二甲苯(有 UV 吸收)	
	以上两种或多种溶剂混合	

① 第一栏与第二栏的任一溶剂相匹配(与水混溶的有机溶剂不可与水溶液一起用于液液萃取)。

溶剂的极性和 pH 值均调至最佳，而待测样品组分的萃取回收率仍然很低时，可通过增加溶剂量来提高回收率，使用多次连续萃取效果更好。在某些情况下，可能会因为萃取过程缓慢，而得不到良好的萃取结果，则可采用以下措施：

① 将样品粉碎得尽可能细，以使更好地与溶剂接触。

② 剧烈振荡使两相混合（如使用混合器或超声波振荡器）。

③ 使用能较好地润湿样品的溶剂（如对水溶性样品用水溶性的溶剂，对于油溶性样品，用非极性溶剂）。

④ 加热样品或溶剂，以索氏萃取的方式进行连续萃取。

许多情况下，萃取过程会产生不易分离的乳液。最常用的消除方法是加入固体盐（如氯化钠）的饱和水溶液。通过加热的方法（如使用红外灯），加速分液漏斗中下层液相的沉降。对较难破坏的乳液还可采用高速离心法分离，并用冰或液氮将混合液冷冻，最后可以把有机相倒出，而留下冻结的水相。

三、液液萃取后处理

样品萃取完成以后，一般要求过滤溶剂相，且在进样之前有时还要进一步处理，如用无水硫酸钠干燥，蒸发浓缩以及进一步净化等。在进行高效液相色谱（HPLC）分析以前，也可以采用开口柱或低压液相色谱进行样品的预分离，例如样品在进行反相液相色谱分离以前，可以使用硅胶、硅酸镁或活性炭进行预分离。用合适固定相涂渍的硅胶柱，在低压下进行的正相或反相液液色谱也可用于样品的预处理。对许多样品无论用高压还是低压制备色谱都能方便、有效地使最后的液相色谱分析简化。

第三节　固相萃取法

固相萃取（SPE）采用高效、高选择性的固定相，以经典的吸附柱色谱试样制备的方法，进行样品分析前的净化、浓缩和富集，相转换以及在线衍生化。与液液萃取相比较，固相萃取有很多优点。表 9-4 中列出了固相萃取的优缺点。

表 9-4　固相萃取的特点[①]

优　点	缺　点
萃取被测物更完全	SPE 萃取管的易变性
分离被测物与干扰物的效率更高	有些被测物会不可逆地吸附于 SPE 萃取管上
降低有机溶剂消耗	
易于收集全部被测物部分	
人工操作更方便	
能除去颗粒	

① 与液液萃取相比较。

一、固相萃取基本操作

固相萃取的一般步骤是将液态或溶解后的固态样品倒入活化过的 SPE 柱中，并利用抽真空或加压使样品进入固定相床层。通常将目标组分和类似的其他组分保留在柱中，尽量减少杂质的保留，用一种溶剂先冲洗掉弱保留的杂质组分，然后再用另一种溶剂把感兴趣的分析物组分从固定相上洗脱下来。有时，可以让目标组分（分析物）直接通过固定相而不被保留，而使大部分干扰物被保留在固定相上，从而得到分离。在多数情况下，使分析物得到保留更有利于样品净化。固相萃取器已商品化，如图 9-2 所示，表 9-5 列出了一般商品固相萃取管。

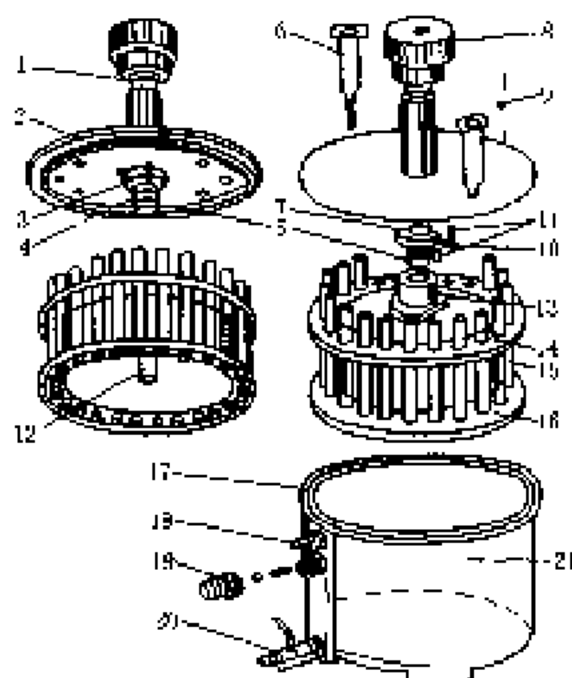


图 9-2　DL-1 型固相萃取器示意图

1—手柄弹簧；2—盖板；3—调节环；4—定位弹簧；5—定位销；6—萃取柱；7—固定件；8—手柄；9—密封圈（24 只）；10—销子；11—限位销；12—固定螺母；13—定位套；14—上托管架；15—试管（24 支）；16—下托管架；17—密封管；18—抽气嘴；19—真空调节阀；20—释放阀；21—缸体

二、固相萃取固定相

与液相色谱分离机理相同，固相萃取的固定相可分为正相、反相和离子交换等多种。正相固定相较强，常带有极性基团—CN、—Si、$—NH_2$ 等，用来保留极性物质；C_{18}、C_8 等非极性反相固定相，可用来保留非极性的分析物；而离子交换固定相以离子静电作用作为保留机理，当分析物离子与固定相带相反电荷时，就会发生离子相互作用，阳离子交换相可保留带正电荷的或阳离子化合物，阴离子交换相保留带负电荷或阴离子化合物。对于胺和羧酸盐等样品，可通过改变溶液 pH 值使之离子化后进行萃取。表 9-6 给出了固相萃取法中常用固定相的实用范围。

表 9-5　SPE 萃取管的一般商品

产　品	供应商	产品类型	专业产品
Bakerbond	J. T. Baker	硅胶基质萃取管范围宽，SPE 盘片	商品，玻璃萃取管用于痕量分析
Bond Elut	Varian 样品前处理产品	产品基质为硅胶和聚合物，SPE 盘片	商品，SPE 固定相和色谱柱，药物专用固定相
Maxi-Clean	Alltech 联合公司	OEM 供应商产品，SPE 盘片，聚合物萃取管	
Sep-Pak	Waters 色谱	萃取管范围广，聚合物萃取管	
Supelco Clean	Supelco	通用萃取管	
HEMA	Lias	聚合物基质 SPE 萃取管	
SPEC	Ansys	玻璃纤维滤片及萃取管	商品
Isolute	国际吸附剂技术	通用萃取管	萃取管用于痕量分析
Clean Screen	联合化学技术	商品	药物吸附萃取管
Empore	3M 公司	内嵌吸附剂的滤片	环保滤片用与特殊环保方法
DL-1	国家色谱研究分析中心（大连）	通用萃取管	

表 9-6　固相萃取常用固定相的适用范围

固定相	适　用　范　围
C_{18}	水溶液中的疏水性化合物；体液中的盐、药物及其代谢物；环境水样中的痕量有机物；酒、饮料中的有机酸；中草药、中成药中的黄酮类、皂苷类、生物碱、胆酸等
C_8	上述样品中保留弱于 C_{18} 的组分
Silica	非水溶液中的弱、中等极性化合物；脂溶性维生素，农药；植物色素；合成有机物等，可代替经典的硅胶柱层析色谱的前处理净化方法
SAX	水溶液或非水溶液中的阴离子分离；可代替 DEAE 纤维素用于酸性或中性蛋白和酶的提取，免疫球蛋白的分离，肽的分级分离；酒、水果汁、食物中酸性色素及酚类化合物的分离
SCX	低容量阳离子交换剂，可代替经典的碱性氧化铝或 TLC 的预处理净化方法，用于水溶液或非水溶液中的农药、除草剂、激素等的分离
NH_2	低容量阴离子交换剂，可用于药物及其代谢物、糖、酚类以及石油和润滑油的分级分离
CN	水溶液或有机溶剂的分析物，主要用于体液中的药物及其代谢物，酿造和发酵产品的代谢物，农药，地表水中的酚类等的分离
Phenyl	芳香类化合物
Diol	有机酸，蛋白质的水系体积排斥色谱

三、固相萃取溶剂

正相固定相中，溶剂强度随其极性增加而增加，而反相固定相中，溶剂强度随其非极性的增加而增加。通常使用水、甲醇、异丙醇和乙腈作为反相分离溶剂，丙酮、乙酸乙酯等作为正相分离溶剂。表 9-7 中列出了常用溶剂的强度次序。

表 9-7　溶剂强度

分离模式	溶　剂　强　度　顺　序
正　相	己烷>异辛烷>甲苯>氯仿>二氯甲烷>四氢呋喃>乙醚>乙酸>丙酮>乙腈>异丙醇>甲醇
反　相	水<甲醇<异丙醇<乙腈<丙酮<乙酸<乙醚<四氢呋喃<二氯甲烷<氯仿<甲苯<异辛烷<己烷

固相萃取法一般包括固定相活化、样品上柱、淋洗和分析物洗脱四个步骤。活化的目的是创造一个样品溶剂相容的环境并除去柱内的所有杂质，通常先用与洗脱剂相同强度或强于洗脱剂的溶剂来净化固定相，以除去所有可能与分析物一起洗出的物质，再用弱于样品溶剂的溶剂建立一个使得样品组分有合适保留值的固定相环境。上样是将样品加入到 SPE 柱并使样品溶剂通过固定相的过程，这时分析物和少量样品干扰物保留在固定相上。分析物得到

保留后，通常需要洗脱固定相以洗掉不需要的样品组分，洗脱溶剂应略强于或等于上样溶剂。洗脱过程完成后，将分析物从固定相上洗脱，这一步骤采用溶剂强度适当，如太强，可能使一些更强保留的不必要的组分洗脱出来。溶剂太弱，需较多的洗脱液来洗出分析物，使固相萃取的浓缩功效削弱。

第四节　样品衍生化

在液相色谱分离之前，有时把样品组分制成衍生物，这不仅可以提高从样品基体中萃取和预分离待测化合物的能力，而且可通过降低样品的极性或改变样品组分的选择性来改善液相色谱分离；还可以改变样品中不同化合物的相对检测器响应，因而可在有谱带重叠的情况下，检测和定量待测组分中的某些组分。目前使用的液相色谱检测器多数是光度计、紫外或荧光检测器，所以对于在紫外或可见光区没有吸收或能产生荧光的样品，衍生化是十分必要的。

一、紫外衍生化[5~10]

液相色谱中应用最广的是紫外吸收检测器，紫外吸收的波长范围一般为（190～365）nm。由于一些强紫外吸收的基团在 254 nm 附近都有较高的摩尔吸收系数，故单波长紫外检测器多数选用 254 nm。表 9-8 中给出了常用的紫外衍生化试剂及特性。

（一）常用紫外衍生化基团

表 9-8　常用紫外衍生化试剂

名　　称	结　　构	最大吸收波长 λ_{max}/nm	摩尔吸收系数 ε_{254}
2,4-二硝基苯	O_2N—C_6H_3—NO_2	—	>10⁴
苯甲基	C_6H_5—CH_2—	254	200
对硝基苯甲基	O_2N—C_6H_4—CH_2—	265	6200
3,5-二硝基苯甲基	$(O_2N)_2C_6H_3$—CH_2—	—	>10⁴
苯甲酸酯	C_6H_5—C(=O)—O—	230	<1000
对甲苯酰基	H_3C—C_6H_4—C(=O)—	236	5400
对氯苯甲酰基	Cl—C_6H_4—C(=O)—O	236	6300
对硝基苯甲酰基	O_2N—C_6H_4—C(=O)—O	254	>10⁴

续表

名称	结构	最大吸收波长 λ_{max}/nm	摩尔吸收系数 ε_{254}
对甲氧基苯甲酸苯酯	H_3CO—C₆H₄—C(=O)—O	262	16000
苯甲酰甲基	C₆H₅—C(=O)—CH_2—	250	~10^4
对溴苯甲酰甲基	Br—C₆H₄—C(=O)—CH_2—	260	18000
α-萘甲酰甲基	C₁₀H₇—C(=O)—CH_2—	248	12000

（二）应用

（1）羧酸　在有机溶剂中，羧酸或羧酸钾盐与具有强紫外吸收的对硝基溴化苄等衍生化试剂反应生成酯。

（2）羟基化合物　3,5-二硝基苯甲酰氯等与脂肪醇反应生成相应的酯。

（3）羰基化合物　醛、酮等羰基化合物与2,4-二硝基苯肼反应，生成具有紫外吸收的苯腙类衍生物。

（4）胺类化合物　胺与酰氯、磺酰氯等反应生成酰胺氨基酸衍生物。

（5）氨基酸衍生物　在 Na_2CO_3 溶液中，氨基酸或肽的α-氨基与异硫氰酸苯酯反应，生成相应的苯氨基硫代甲酰基氨基酸（phenylthio carbamyl amino acid 简称 PTC-氨基酸），它在无水弱酸中环化为乙内酰苯硫脲（3-phenyl-2-thiohydantion，称为 PTH-氨基酸）。

二、荧光衍生化[3~6]

荧光检测器的灵敏度比紫外检测器高3个数量级，尤其适合于痕量分析。对痕量高级脂肪酸、氨基酸、生物胺、甾体化合物和生物碱等本身不发荧光的样品，可以通过与荧光试剂进行衍生化反应生成能够产生荧光的衍生化产物，进一步进行荧光痕量检测。

（一）常用的荧光衍生化试剂

表9-9是一些常用的荧光衍生化试剂。

表 9-9　常用荧光化试剂

名称	简称	结构式	应用
1-二甲氨基萘-5-磺酰氯	丹磺酰氯（DNS-Cl）	$(CH_3)_2N$—C₁₀H₆—SO_2Cl	RNH_2 R—NH—R' RCH(NH₂)—COOH

续表

名　称	简　称	结 构 式	应　用
1-二甲氨基萘-5-磺酰肼	丹磺酰肼（DNS-hydrazine）	CH_3 CH_3 N SO_2NHNH_2	R、R' C=O RCHO
4-苯基螺[呋喃-2(3H)-1-酞胺]-3,3'-二酮	荧光胺（fluorescamine）	O O O	RNH_2 $RCHCOOH$ (NH_2)
邻苯二甲醛	OPA	—CHO —CHO	$R—CHCOOH$ (NH_2)
4-溴甲基-7-甲氧基香豆素	Br-Mmc	CH_2Br H_3C O O	RCOOH
9-重氮甲基蒽	ADAM	CHN_2	RCOOH
荧光素异硫氰酸酯	FITC	HO O OH COOH N=C=S	RNH_2 $RCHCOOH$ (NH_2)
N-[p-(2-苯并噁唑基)苯基]马来酰亚胺	BLPM	N O O N O	RSH
4-氯-7-硝基苯一氧二氮杂茂	NBD—Cl	Cl N O N	RNH_2 R、R' NH
吡哆醛		CHO HO CH_2OH CH_3 N	$RCH—COOH$ (NH_2)

（二）应用

(1) 丹磺酰氯（DNS-Cl）　是应用最广泛的荧光衍生化试剂。可与氨基酸、伯胺、仲胺快速反应，与酚反应较慢，而与醇反应非常慢，反应在 pH=9.5～10 的水-有机混合物（如 φ=1∶1丙酮-水）中进行。一般反应需(20～40) min，DNS 氨基酸的最低检出量为 10^{-15}g。

(2) 荧光胺（fluorescamine）　主要用于氨基酸、伯胺的衍生化，反应条件温和，反应速

度快，在 pH＝8～10 的条件下几秒钟可以完成。

(3) 邻苯二甲醛（OPA） 在碱性介质中，有还原剂存在（如 β-巯基乙醇）下，OPA 与氨基酸、儿茶酚胺和多胺等氨基化合物生成很强的荧光衍生物，由于反应速度快，能用于柱前或柱后衍生化反应，最低检测量 10^{-12}g。

(4) 吡哆醛 在碱性介质中和氨基酸缩合生成席夫（Schiff）碱络合物，后者用硼氢化钠还原成稳定的荧光产物。

三、电化学衍生化[5]

电化学衍生化法是指样品与某些试剂反应生成具有电化学活性的衍生物，以便于在电化学检测器上有较高的响应。某些带硝基的衍生化试剂可分别与带有羟基、氨基、羧基和羰基的化合物反应生成电化学活性的衍生物。离子强度、pH 值和溶剂组成等对电化学反应有很大影响。介质的电导是一种重要的影响因素，离子强度高于 0.05 mol·L^{-1} 对安培检测有利，pH 值影响反应的电荷转移。表 9-10 列出了常用的电化学衍生化试剂。

表 9-10 电化学衍生化试剂

试剂	简称	反应物
$(O_2N)_2C_6H_3$—C(=O)—Cl	DNBC	ROH、R_1R_2NH
O_2N—C_6H_4—CH_2—C(=O)—O—N(琥珀酰亚胺)	SNPA	R_1R_2NH
O_2N—$C_6H_3(NO_2)$—F	DNFB	$RCH(NH_2)COOH$、R_1R_2NH
O_2N—$C_6H_3(NO_2)$—O—SO_2—OH	DNBS	$RCH(NH_2)COOH$、R_1R_2NH
O_2N—C_6H_4—CH_2O—C(=$NCH(CH_3)_2$)—$NHCH(CH_3)_2$	PNBDI	RCOOH
O_2N—C_6H_4—CH_2Br	PNBB	RCOOH
O_2N—$C_6H_3(NO_2)$—$NHNH_2$	DNPH	R_1—C(=O)—R_2、RCHO

四、柱后衍生化技术

柱后衍生化是指样品混合物经过分离随流动相流出色谱柱后，在反应检测器中与衍生化试剂混合并进行衍生化反应，然后再进入检测器的一种特殊的衍生化方法，如图 9-3 所示。表

9-11 列出了柱后衍生化技术的特点。

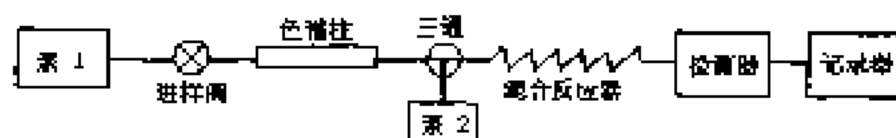


图 9-3　柱后衍生化示意图

表 9-11　柱后衍生化技术的特点

优　　点	缺　　点
人为因素影响较少，便于实现连续自动化分析	所有溶峰（除了反应最快的）都发生扩散，展宽
只要重现性好，不影响被测物的色谱行为	方法建立和日常应用麻烦
完全反应与否并不重要	流动相和衍生化试剂之间可能不相容
	需考虑动力学因素（反应完全的最长时间为 30 min）
	过量的试剂留在系统内，可能会干扰测定

氨基酸分析仪是柱后衍生化的典型例子。图 9-4 为自动氨基酸分析仪系统。氨基酸混合物通过 Aminc×6 离子交换柱（内径 6 mm×250 mm），流动相分别为 pH 值 3.20，4.25 和 6.40 的三种柠檬酸盐缓冲液，被依次切换进入系统。开始用 pH3.20 的柠檬酸缓冲液，待谷氨酸洗出后被切换到 pH4.25，苯丙氨酸被洗出后再切换到 pH6.40。洗脱液流速 25 ml·h^{-1}。试剂溶液包括：邻苯二甲醛（0.8 g·L^{-1}）、乙醇（10 ml·L^{-1}）和 2-巯基乙醇（200 ml·L^{-1}）的 0.1 mol·L^{-1}硼酸盐缓冲液（pH10），流速为 30 ml·h^{-1}。洗脱液和试剂溶液在反应管内混合 5 min（室温下），直接进入荧光检测器的微量流动池进行检测。

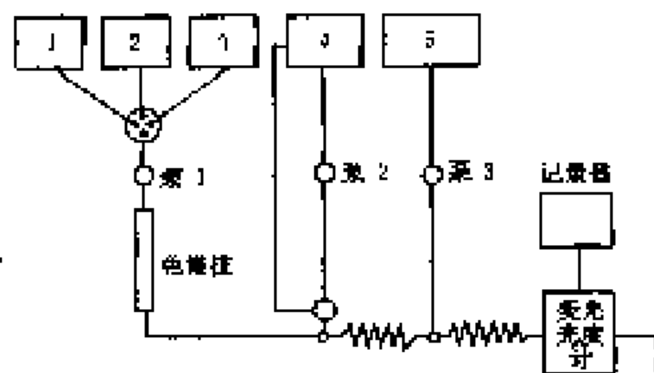


图 9-4　氨基酸分析系统

1—柠檬酸盐缓冲液 0.2 mol·L^{-1}，pH=3.20；2—柠檬酸盐缓冲液 0.2 mol·L^{-1}，pH=4.25；3—柠檬酸盐缓冲液 1.0 mol·L^{-1}，pH=6.40；4—N-氯代丁二酰亚胺 10^{-4} mol·L^{-1}，pH=3；5—邻苯二甲醛 2-巯基乙醇，0.1 mol·L^{-1}硼酸缓冲液，pH=10

氨基酸混合物经过分离后，依次与邻苯二甲醛在碱性有还原剂（如 2-巯基乙醇）存在条件下（或茚三酮）反应，然后通过荧光法（或茚三酮用光度法）进行检测，激发波长 445 nm。

荧光胺与氨基酸的反应极为迅速，试剂的水解产物不发荧光，所以已被用作氨基酸柱后衍生化试剂，激发波长 390 nm，发射波长 475 nm，检测限约 10^{-11} mol。这种方法要求试剂与反应液混合迅速，均匀，特别是在反应液密度不一致的情况下，对混合器设计的要求较高，且荧光胺只能同伯胺反应。

荧光胺和邻苯二甲醛的共同缺点是其与脯氨酸及羟基脯氨酸几乎不反应，与半胱氨酸反应的产率也很低，可由 N-氯代丁二酰亚胺（pH2.0）或 7-氯-4-硝基苯呋喃（7-Chloro-4-nitrobenzfuran）与之反应，仍通过荧光检测。其他生物胺和多胺也可用此法分析。仲胺的柱后衍生化反应还可用 NBD-Cl 作衍生化试剂。

五. 柱前衍生化技术

柱前衍生化即被测物先经衍生化，然后再通过液相色谱分离、分析。与柱后衍生化相比，柱前衍生化受仪器和化学反应的限制较少。如果所有试剂、被测物及衍生化产物均稳定，则衍生化反应不存在动力学时间限制。衍生化反应完成后，可以采用其他样品预处理步骤除去不需要的副产物及样品中的干扰物，也可以改变样品溶剂使之与液相色谱流动相兼容[7,8]。

柱前衍生化由于没有反应动力学时间限制，因此可以采用特殊的反应装置，在复杂反应条件下从容完成相应的衍生化反应。

样品组分经衍生化反应形成相应的复合物，如采用荧光试剂衍生化可以使不产生荧光的样品产生荧光以提高其检测灵敏度；无机金属离子通过衍生化的方法转化成络合衍生物等。由于样品与衍生化试剂复合物与原样品组分性质不同，往往更强地显示出衍生化试剂的性质，因此将会使液相色谱分离选择性产生较大变化[9]。根据分析的需要，任何样品都可以通过柱前衍生化的方法改善其检测灵敏度和选择性。

柱前衍生化的缺点是可能损失被测物，也可能因反应引入另外的杂质，而且衍生化反应需要特殊的装置，增加了方法的复杂性，并导致方法精密度降低。

参 考 文 献

1 Majors R E. LC/GC, 1991, 9(1): 16

2 Snyder L R, Van Der Wal S. Anal Chem, 1981, 53: 877

3 Snyder L R, Kirkland J J, Glajch J L. Practical Hplc Method Development. Second Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1997, 165

4 邹汉法, 张玉奎, 卢佩章. 高效液相色谱法. 北京: 科学出版社, 1998, 268

5 柯以侃, 董慧茹. 分析化学手册. 第二版. 第三分册: 光谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1998

6 王俊德, 商振华, 郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京: 中国石化出版社, 1992, 202

7 Ahuja S. Selectivity And Detectability Optimization in Hplc. New York: Wiley, 1989

8 Wainer I W. Liquid Chromatography in Pharmaceutical Development. Aster Publishing, Springfield, OR, 1985

9 Scott R P W. Liquid chromatography for the Analyst. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991

第二篇 谱图选集

第十章 反相色谱谱图

第一节 糖类色谱图



色谱峰：1—核糖；2—木糖醇；3—甘露糖醇；4—[illegible]；5—麦芽糖；6—[illegible]；7—海藻糖

色谱柱：Lichrospher Diol，250 mm×4 mm

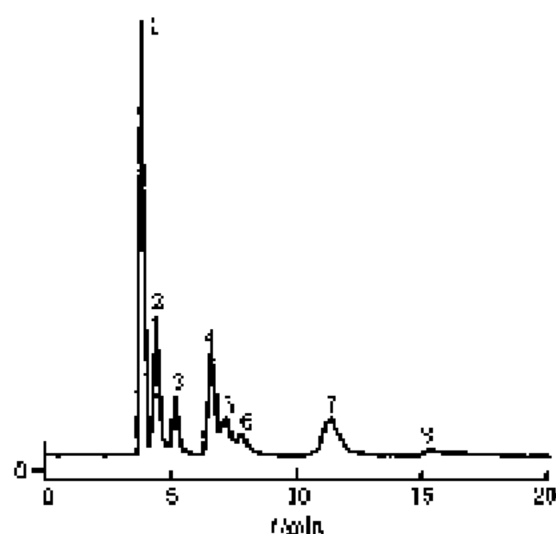
流动相：CH_2Cl_2+甲醇（体积比=78∶22）

流 速：1 ml·min^{-1}

柱 温：40℃

检测器：ELSD

图 10-1 二糖和多羟基化合物的等度分离谱图[1]



色谱峰：1—肌醇；2—山梨糖醇；3—甘油醛；4—葡萄糖；5—蔗糖；6—果糖；7—[illegible]；8—[illegible]

色谱柱：T222 MPR 分离柱

流动相：15 mmol·L^{-1} KOH

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：PAC 检测，柱后加入 0.5 mol·L^{-1} NaOH，（流速 0.6 ml·min^{-1}）

图 10-2 8 种碳水化合物分离谱图[2]

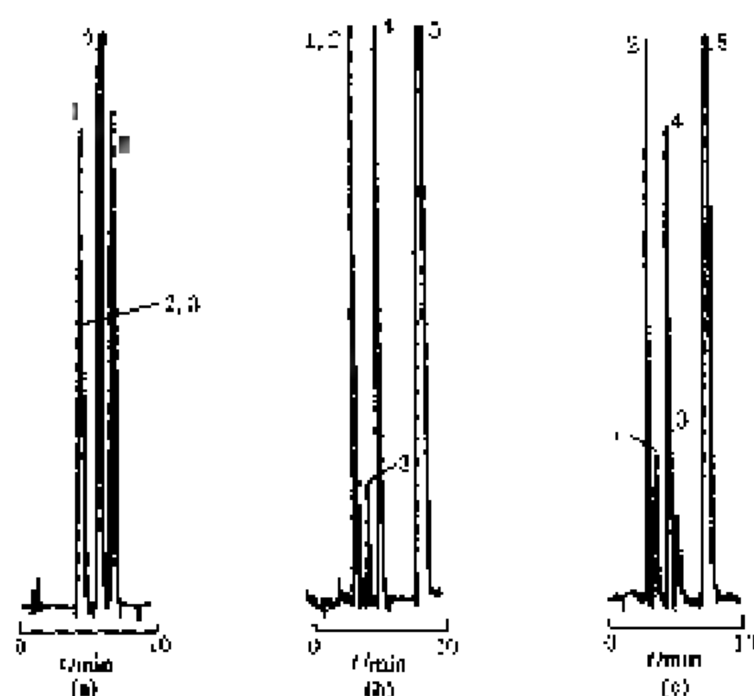


图 10-3　5种辛烷基糖苷分离谱图[4]

色谱峰：1—1-O-辛基-β-D-半乳糖苷；2—1-O-辛基-α-D-葡萄糖苷；3—1-O-辛基-β-D-葡萄糖苷；4—1-C-辛基-β-D-葡萄糖苷；5—1-S-辛基-β-D-葡萄糖苷

色谱柱：(a) Zorbax ODS，150 mm×4.6 mm（内径）；
(b)、(c) Hypercarb S，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) 乙腈-水（体积比=35：65）；
(b) 乙腈-水（体积比=40：60）；
(c) MeOH-水（体积比=95：5）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：蒸发光散射检测器

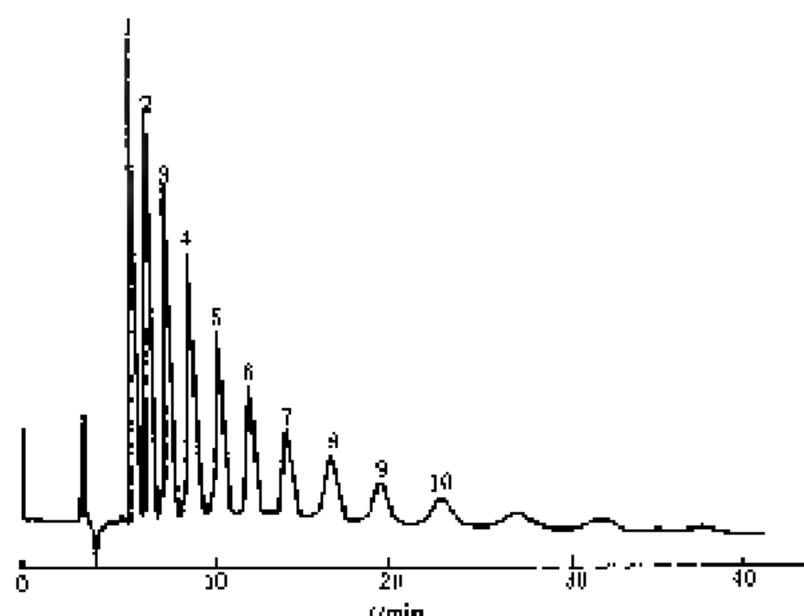


图 10-4　多糖分离谱图(一)[4]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5；6—DP6；7—DP7；8—DP8；9—DP9；10—DP10

色谱柱：Rainin Dynamax-60A NH_2，键合氨基硅，25 cm×4.6 mm（内径），8 μm

流动相：乙腈-水（体积比=50：50）

流　速：0.75 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：折射率

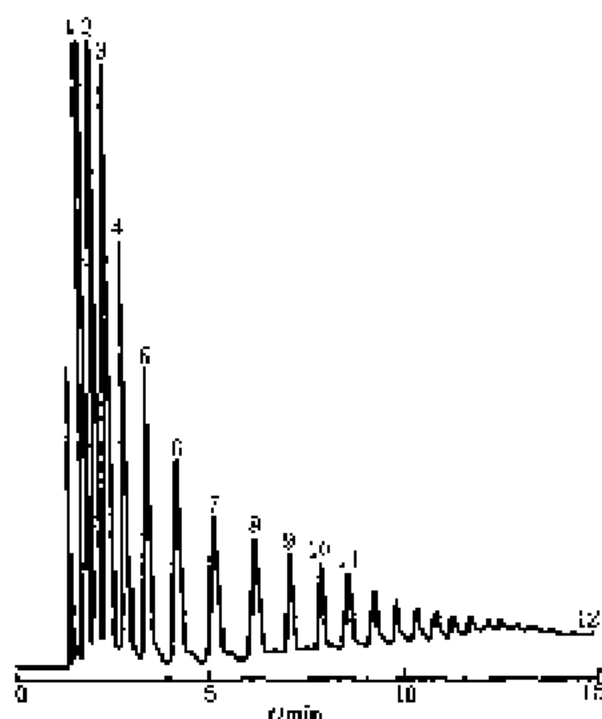


图 10-5 多糖分离谱图（二）[4]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5；6—DP6；7—DP7；8—DP8；9—DP9；10—DP10；11—DP11；12—DP22

色谱柱：Dionex HPLC-AS6 阴离子 Styrene-联乙烯苯，25 cm×4 mm（内径），10 μm

流动相：A. 0.15 mol·L⁻¹ NaOH

B. 0.15 mol·L⁻¹ NaOH+0.5 mol·L⁻¹ NaAC

梯度冲洗：50%A+50%B，1 min；50%A+50%B 升至100% B，5 min 内

流　速：1.0 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：脉冲安培金电极



图 10-6 多糖类化合物分离谱图（一）[5]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5；6—DP6；7—DP7；8—DP8；9—DP9；10—DP10

色谱柱：Du Pont Zorbax-NH_2 键合氨基柱，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+水（体积比=67∶33）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

温　度：35℃

检测器：折射率

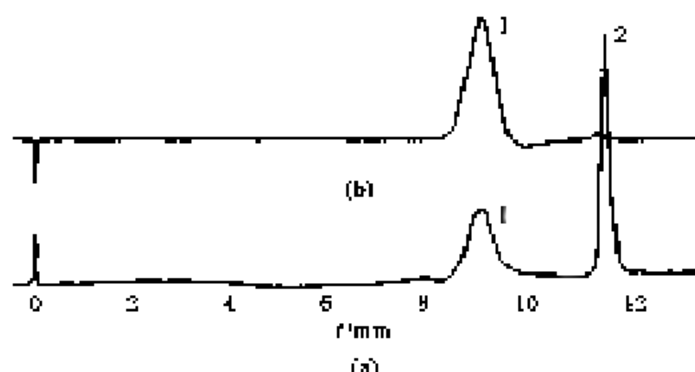


图 10-7 多糖类化合物分离谱图（二）[7]

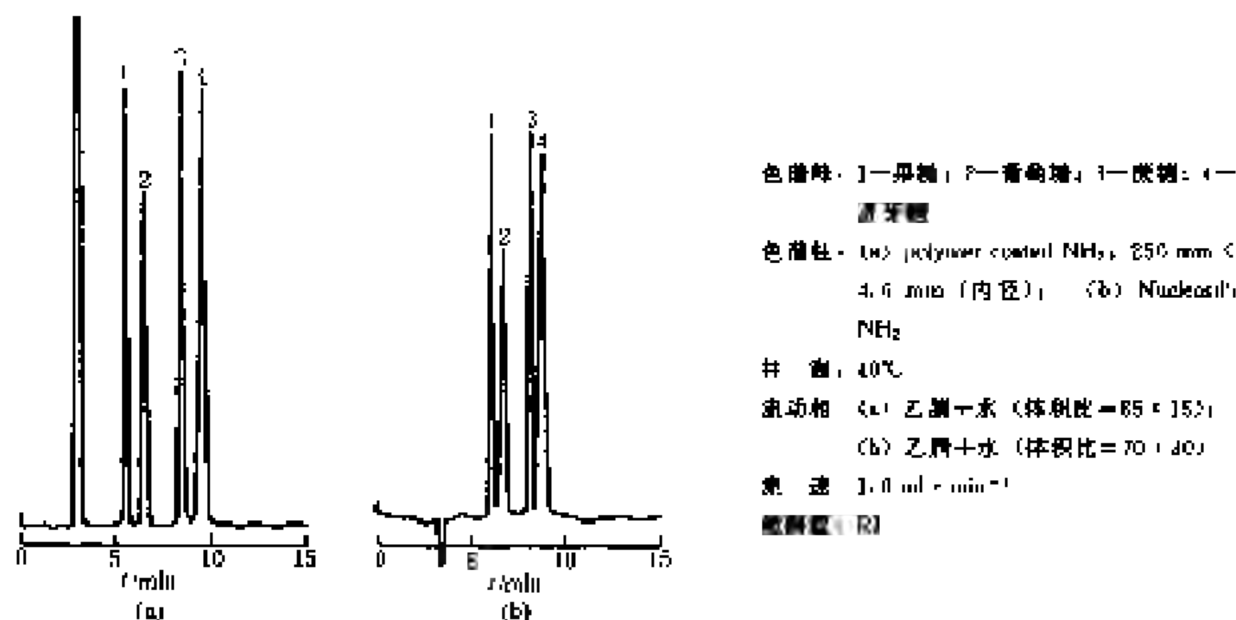
色谱峰：1—Rheomacrodex（相对分子质量 40 000）；2—葡萄糖

色谱柱：两根 Du Pont Zorbax Bimodal Si 未硅烷化硅，25 cm×6.2 mm（内径），6 μm

流动相：5.5 g·L⁻¹ NaCl 水溶液等度冲洗

流　速：50 ml·min⁻¹

检测器：(a) UV（205 nm）；(b) 折射率



色谱峰：1—果糖；2—葡萄糖；3—蔗糖；4—麦芽糖

色谱柱：(a) polymer coated NH_2，250 mm × 4.6 mm（内径）；(b) Nucleosil NH_2

柱　温：40℃

流动相：(a) 乙腈+水（体积比=85∶15）；(b) 乙腈+水（体积比=70∶30）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：RI

图 10-8　单、双糖分离谱图[1]

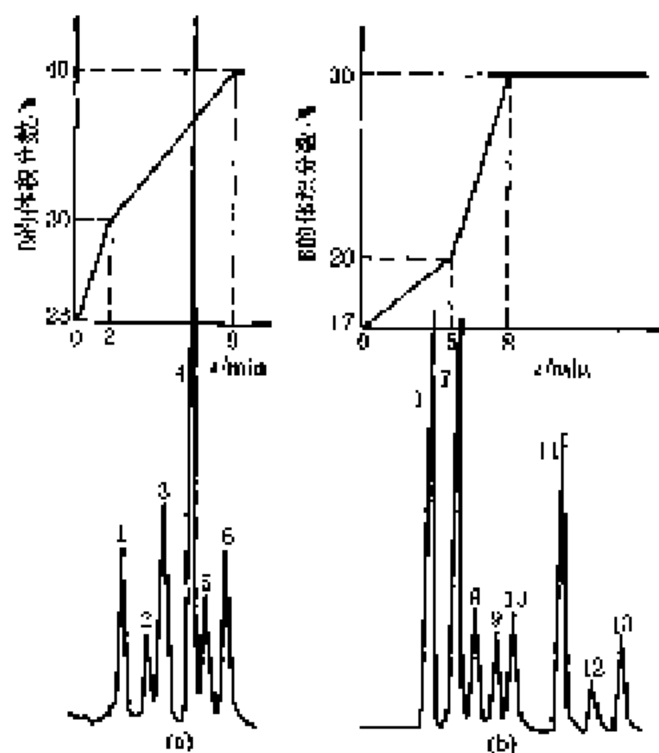


图 10-9　单糖、二糖和三糖的梯度分离谱图[1]

色谱峰：1—脱氧核糖（dR）；2—木糖（X）；3—半乳糖（Ga）；4—乳糖（L）；5—甘露醇（mI）；6—海藻糖（T）；7—鼠李糖（Rh）；8—果糖（F）；9—甘露糖（Ma）；10—葡萄糖（G）；11—蔗糖（S）；12—蜜二糖（Me）；13—蜜三糖（R）

色谱柱：LiChrospher Diol，250 mm×4 mm

流动相：CH_2Cl_2和甲醇（B）混合物

梯度洗脱：(a) 0~2 min 25%B变至30%B，2~9 min 30%B变至40%B，9 min以后保持40%B；

(b) 0~5 min 17%B变至20%B，5~8 min 20%B变至30%B，8 min以后保持30%B

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：40℃

检测器：ELSD

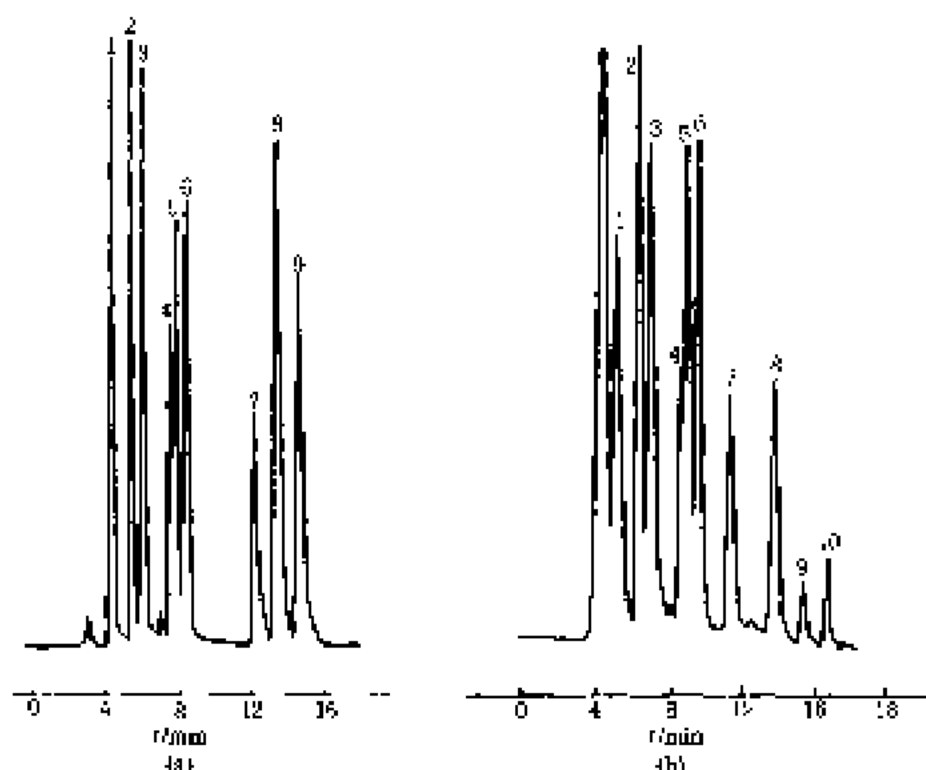


图10-10　单糖的反相HPLC分离谱图[?]

(a) 标准甲基苷谱图；(b) 糖甲醇分解中的甲基苷谱图

色谱峰：1—内消旋肌醇；2—甲基-α-D-半乳糖吡喃糖苷；3—甲基-α-D-乳糖吡喃糖苷；4—甲基-β-L-阿拉伯吡喃糖苷；5—甲基-α-D-甘露糖吡喃糖苷；6—甲基-D-岩藻糖；7—甲基-α-D-N-乙酰基吡喃葡萄糖苷；8—甲基-α-L-岩藻-D-半乳糖；3—D-乳糖；4—D-木糖；5—D-甘露糖；6—D-岩藻糖；7—乙酰基-D-半乳糖胺；8—N-乙酰基-D-半乳糖胺；9—L-岩藻糖；10—鼠李糖

色谱柱：Spherisorb ODS-2 (C_{18})

Societe Francaise de Colonnes Chromatographiques (SFCC)，25.0 cm×4.6 mm (内径)，5 μm

流动相：甲醇+水 (体积比=3∶97)

流　速：0.5 mL·min^{-1}　　温　度：25℃

检测器：光散射

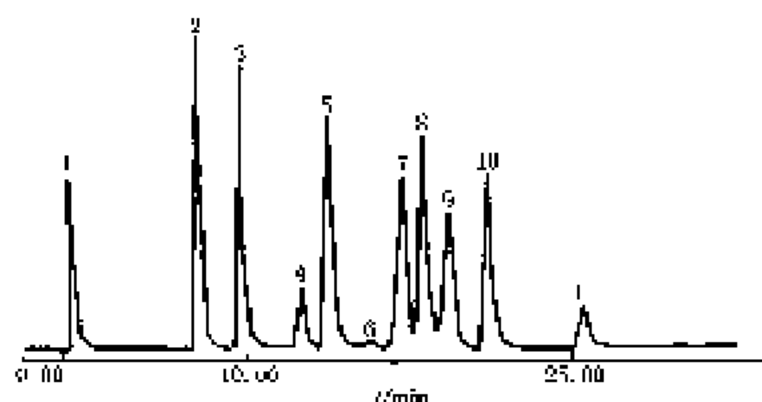


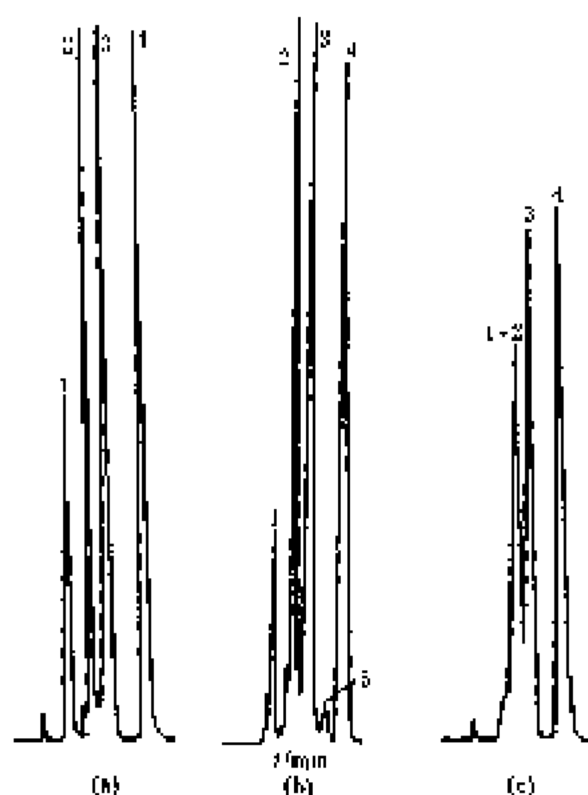
图10-11　单糖的(PMP衍生化)分离谱图[?]

色谱峰：1—杂质；2—甘露糖；3—葡糖胺；4—N-乙酰神经氨酸—乳糖；5—半乳糖胺；6—2-脱氧核糖基乳糖；7—N-乙酰葡糖胺；8—β-乳糖；9—葡萄糖苷；10—半乳糖；11—果糖

色谱柱：25 cm×0.46 cm，Inertsil ODS

样　品：[illegible]　　　　流　速：1 mL·min^{-1}

流动相：梯度冲洗15%～25%乙腈55 min　　　　检测器：UV (254 nm)



色谱峰：1—脱氧核糖；2—鼠李糖；3—果糖；4—甘露糖；5—葡萄糖

色谱柱：Lichrospher Diol，250 mm×4 mm

流动相：CH_2Cl_2∶甲醇（体积比＝83∶17）

流　速：1 mL·min^{-1}

柱　温：40℃

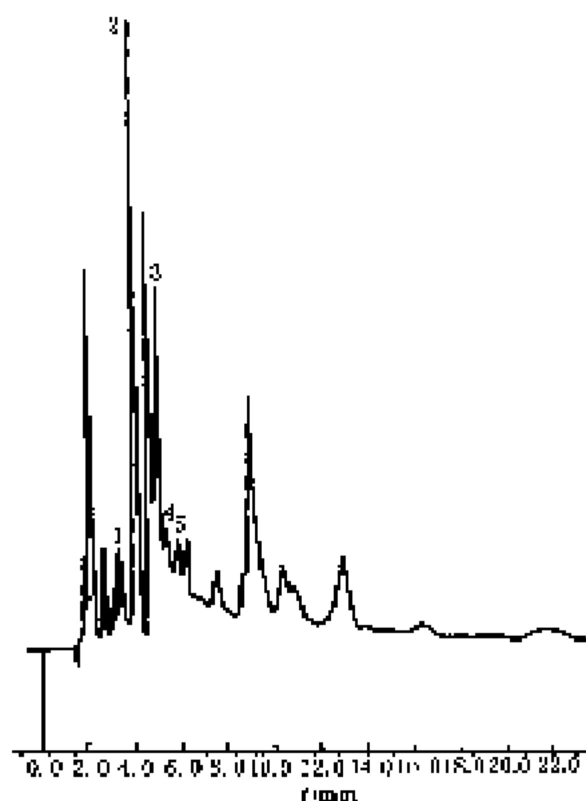
进样溶剂：(a) 甲醇＋CH_2Cl_2（体积比＝50∶50）；

(b) 甲醇＋水（体积比＝85∶15）；

(c) 甲醇＋水（体积比＝50∶50）

检测器：ELSD

图 10-12　单糖的亲质分离谱图[15]



样　品：500 mg 咖啡溶解在 75 mL 蒸馏水中，然后过滤，最后 1∶20 稀释

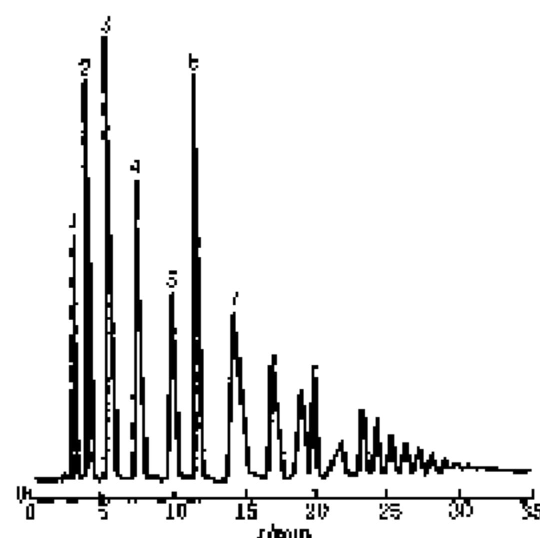
色谱峰：1—甘露醇；2—阿拉伯糖；3—葡萄糖＋半乳糖；4—甘露糖；5—果糖；

色谱柱：Carbopac PA1

使用电压：0.550V，Ag/AgCl

检测器：电化学

图 10-13　咖啡溶液谱图[16]



色谱峰：1—肌醇；2—甘露糖醇；3—甘油醛；4—葡萄糖；5—蔗糖；6—果糖；7—麦芽糖

色谱柱：248 $m^2 \cdot g^{-1}$ SMP D882

流动相：NaOH

梯度洗脱：0 min，10 mmol·L^{-1} KOH＋10 mmol·L^{-1} $LiCO_3$ (1～15) min，0～0.5 mmol·L^{-1} LiOH＋10 mmol·L^{-1} LiOH，(15～50) min，(0.5～6.75) mmol·L^{-1} $LiNO_3$－10 mmol·L^{-1} LiOH

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：PAD检测，柱后以 0.5 ml·min^{-1}加入 0.3 mol·L^{-1} NaOH

图 10-14　直链混合标准糖分离谱图[16]

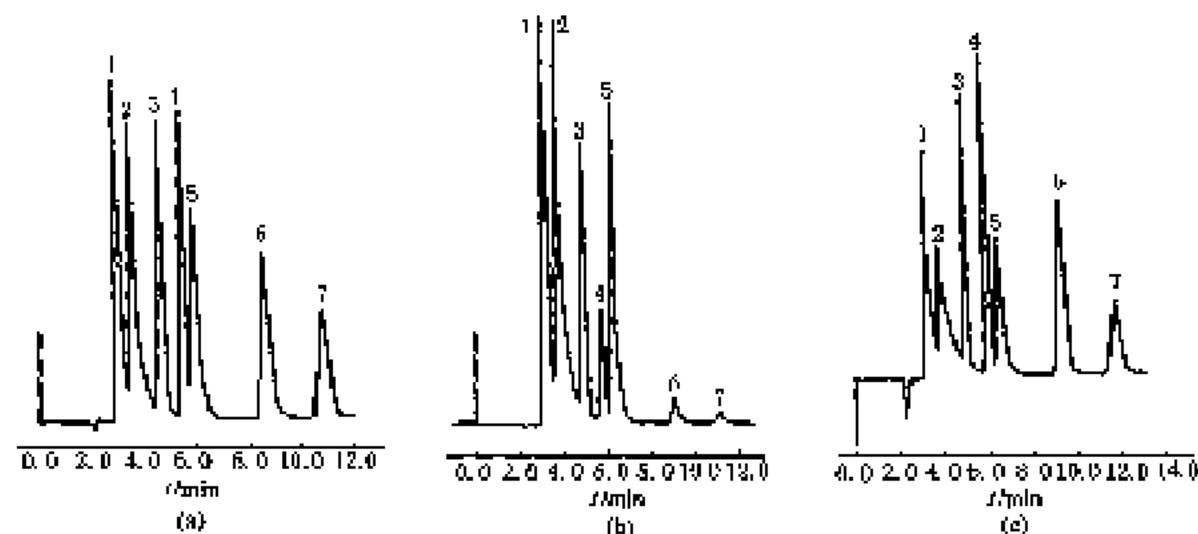


图 10-15　标准碳水化合物混合物谱图[9]

色谱峰：1—木糖醇；2—山梨醇；3—阿拉伯糖；4—葡萄糖；5—果糖；6—乳糖；7—蔗糖

(a) 色谱柱：Dionex Carbopac PA1，250 mm×4 mm（内径）

　流　速：0.6 ml·min^{-1}

　电　势：0.550 V，Ag/AgCl

(b) 电　压：0.350 V

　色谱柱：Dionex Carbopac PA1，250 mm×4 mm（内径）

　流动相：0.2 mol·L^{-1} NaOH（等度冲洗）

　流　速：0.6 ml·min^{-1}

　电　势：0.550 V，Ag/AgCl

(c) 脉冲检测模式：$E_{det}=0.200$ V；$t_{det}=0.4$ s；$E_{oxd}=0.650$ V；$t_{oxd}=0.2$ s；$E_{red}=-0.200$ V；$t_{red}=0.2$ s

　色谱柱：Dionex Carbopac PA1，250 mm×4 mm（内径）

　流动相：0.2mol·L^{-1} NaOH（等度冲洗）

　流　速：0.6 ml·min^{-1}

　电　势：0.550 V，Ag/AgCl

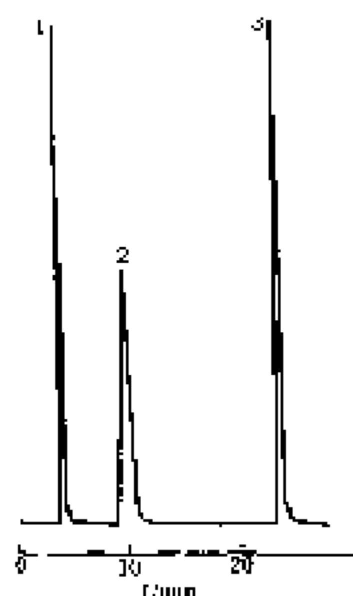


图 10-16　梯度冲洗条件下 3 种烷基糖苷谱图[4]

色谱峰：1—1-O-辛基-β-D-吡喃葡萄糖苷；2—1-O-癸基-β-D-吡喃葡萄糖苷；3—1-O-癸基-β-D-麦芽糖苷

色谱柱：Hypercarb S，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A 甲醇；B 乙腈+水（体积比=70∶30）

梯度冲洗：A 冲洗 10 min，然后冲洗到 B10 min，最后保持 B 不变。

流　速：1 ml·min^{-1}梯度

检测器：蒸发光散射检测器

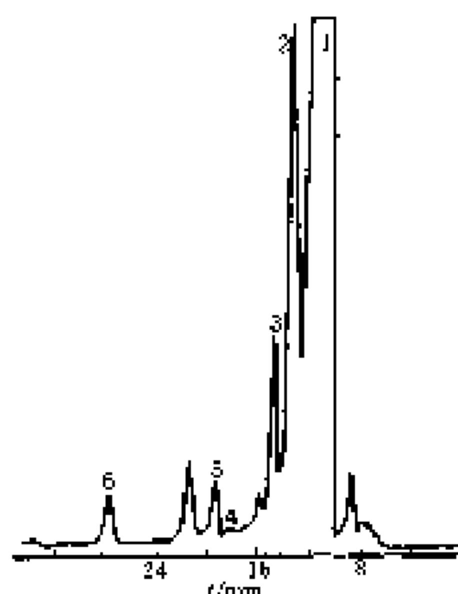


图 10-17　葡萄糖降解产物谱图[5]

色谱峰：1—葡萄糖；2—果聚糖；3—甘油醛；4—二羟基丙酮；5—1,6 脱水 β-吡喃葡萄糖；6—羟甲基糠醛

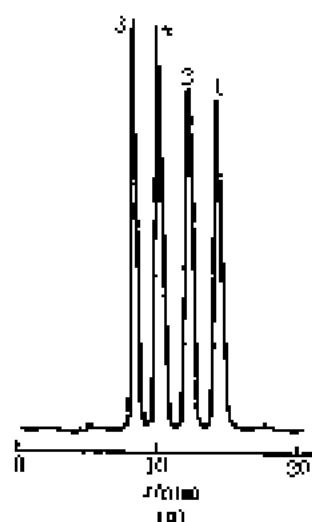
色谱柱：HPX87（C Bio-Rad），300 mm×7.8 mm（内径）

流动相：水，柱后加 0.? mol·L^{-1} NaOH（0.6 ml·min^{-1}）

流　速：0.6 ml·min^{-1}

柱　温：95℃

检测器：安培检测 300 mV vs. Ag/AgCl（KCl 3 mol·L^{-1}）



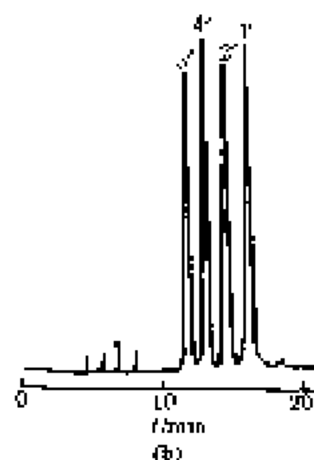


图 10-18　葡萄糖衍生物谱图[6]

色谱峰：1—顺(1S,2R)2,3,4,6-四对乙酰-β-D-吡喃葡萄糖衍生物；2—顺(1R,2S)2,3,4,6-四对乙酰-β-D-吡喃葡萄糖衍生物；3—反(1S,2S)2,3,4,6-四对乙酰-β-D-吡喃葡萄糖衍生物；4—反(1R,2R)2,3,4,6-四对乙酰-β-D-吡喃葡萄糖衍生物

色谱柱：Vydac 218 TP54C_{18}，250 mm×4.6 mm，5 μm

柱　温：室温

流动相：(a) 0.1% TFA+甲醇（体积比=50∶50）；(b) 0.01mol·L^{-1}乙酸铵+乙腈（体积比=70∶30）

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：二极管阵列检测

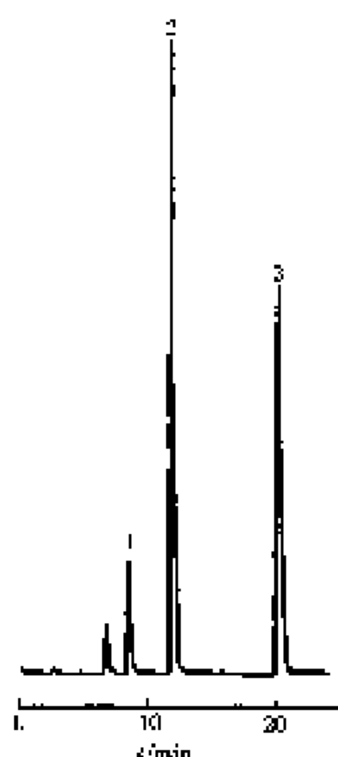


图 10-19 葡糖醛酸及其内酯谱图[11]

色谱峰：1—内标；2—葡糖醛酸；3—葡糖醛酸内酯

色谱柱：Cosmosil 5C18，150 mm×6 mm（内径）

流动相：40 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH7.0）＋乙腈-水（体积比＝82∶18）

流　速：1 ml·min⁻¹

柱　温：室温

检测器：UV（245 nm）



图 10-20 寡糖分离谱图[12]

色谱峰：1—葡萄糖，2—麦芽糖；3—麦芽三糖；4—麦芽四糖；5—麦芽五糖；6—麦芽六糖；7—麦芽七糖

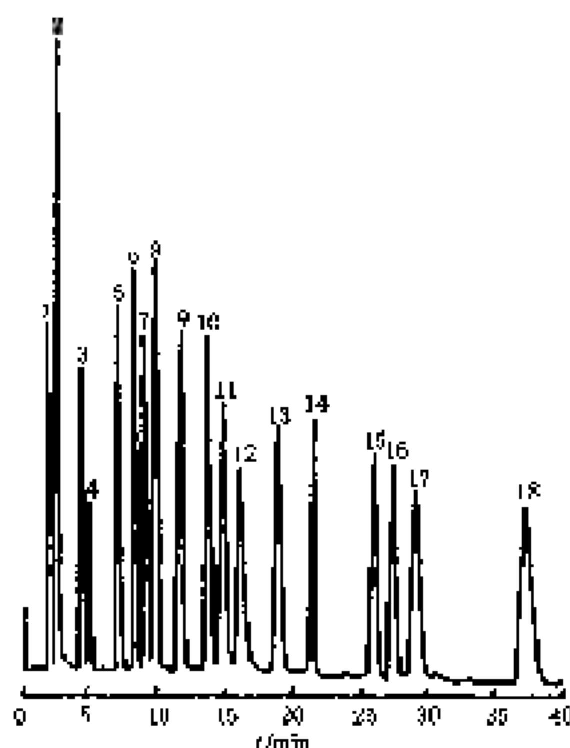
色谱柱：polymercoated NH_2，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：40°C

流动相：乙腈＋水（体积比＝65∶35）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：RI



色谱峰：1—肌醇；2—山梨醇；3—岩藻糖；4—脱氧核糖；5—脱氧葡萄糖；6—阿拉伯糖；7—鼠李糖；8—半乳糖；9—葡萄糖；10—木糖；11—甘露糖；12—果糖；13—蜜二糖；14—异蜜二糖；15—龙胆二糖；16—纤维二糖；17—土耳其糖；18—麦芽糖

色谱柱：HPIC-AS6A 阴离子，styrene-二乙烯基苯，25 cm×4 mm（内径），5 μm

流动相：A 水；B 48 mmol·L⁻¹ NaOH＋1.5 mmol·L⁻¹ 乙酸

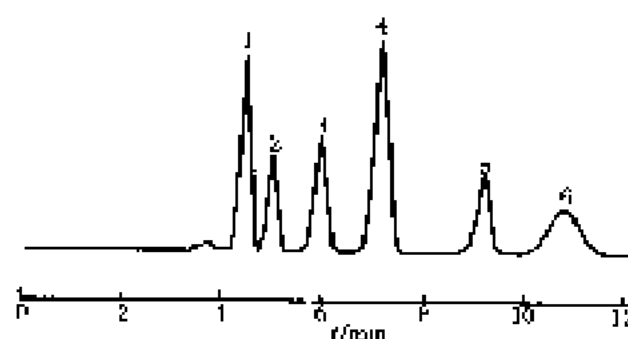
梯度冲洗：6%B→6%B（5 min）→100%B（10 min）

流　速：0.8 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：脉冲安培金电极，柱后加 0.3 mol·L⁻¹ NaOH

图 10-21 碳水化合物分离谱图（一）[13]



色谱峰：1—麦芽三糖，2—蔗糖，3—葡萄糖，4—果糖，5—甘露醇，6—核糖

色谱柱：多孔 CA，磺化聚合 styrene（钙型），22 cm×4.6 mm（内径），10 μm

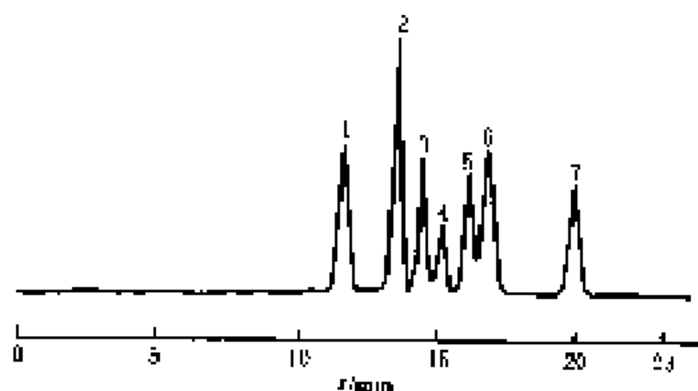
流动相：水

流　速：0.3 ml·min^{-1}

温　度：85℃

检测器：折光

图 10-22　碳水化合物分离谱图（ ）[14]



色谱峰：1—纤维素二糖，2—葡萄糖，3—木糖，4—半乳糖，5—阿拉伯糖，6—甘露糖，7—赤藓醇

色谱柱：多孔 PH，磺化聚合 styrene，25 cm×4.5 mm（内径），10 μm

流动相：水

流　速：0.3 ml·min^{-1}

温　度：85℃

检测器：折光

图 10-23　碳水化合物分离谱图（二）[14]

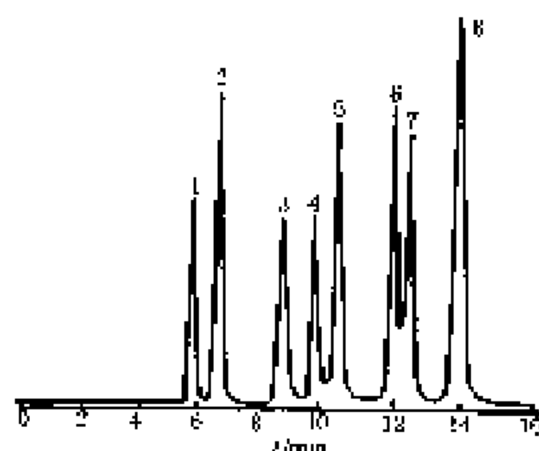


图 10-24　碳水化合物分离谱图（四）[15]

色谱峰：1—木糖，2—果糖，3—葡萄糖，4—蔗糖，5—麦芽糖，6—乳糖，7—松三糖，8—棉子糖

色谱柱：AlltechGOCH，键合氨基硅，30 cm×4.1 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈+水（体积比=85∶15）

流　速：2.5 ml·min^{-1}

温　度：35℃

检测器：折光

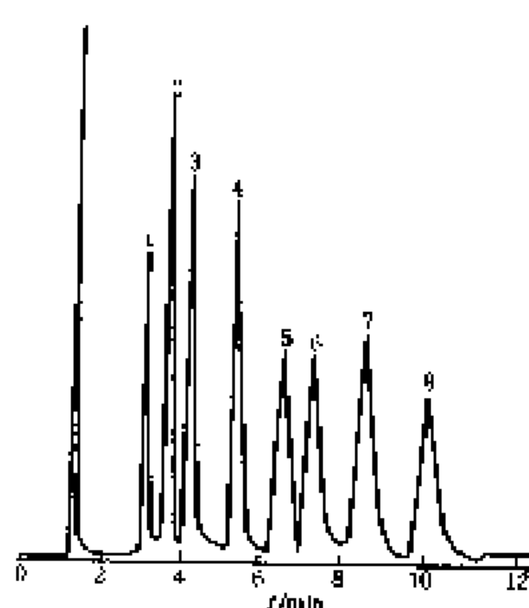


图 10-25　碳水化合物分离谱图（五）[15]

色谱峰：1—麦芽三糖，2—蔗糖，3—葡萄糖，4—半乳糖，5—果糖，6—甘露醇，7—Arabitol，8—山梨醇

色谱柱：Alltech 700CH 磺化 styrene，30 cm×6.5 mm（内径），10 μm（钙型）

流动相：水

流　速：0.5 ml·min^{-1}

温　度：90℃

检测器：折光

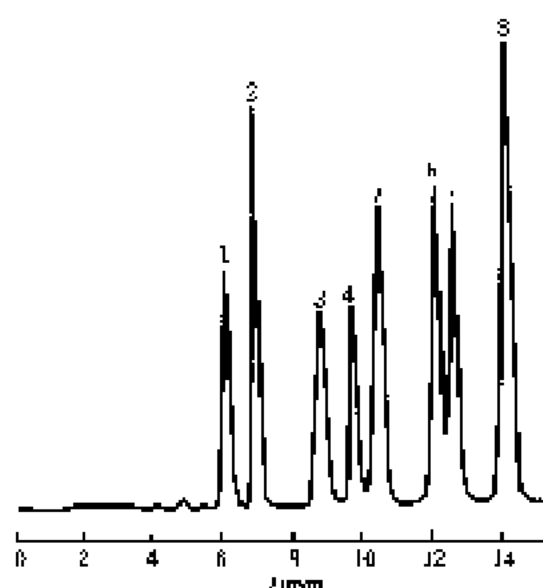


图 10-26 碳水化合物分离谱图（六）[5]

色谱峰：1—麦芽三糖；2—蔗糖；3—葡萄糖；4—半乳糖；5—果糖；6—甘露糖醇；7—阿糖醇；8—山梨醇

色谱柱：相互作用 IC-5700，钙键合离子交换聚合物，30 cm×6.5 mm（内径），10 μm

流动相：水

流　速：0.5 ml·min⁻¹

温　度：90℃

检测器：折射率

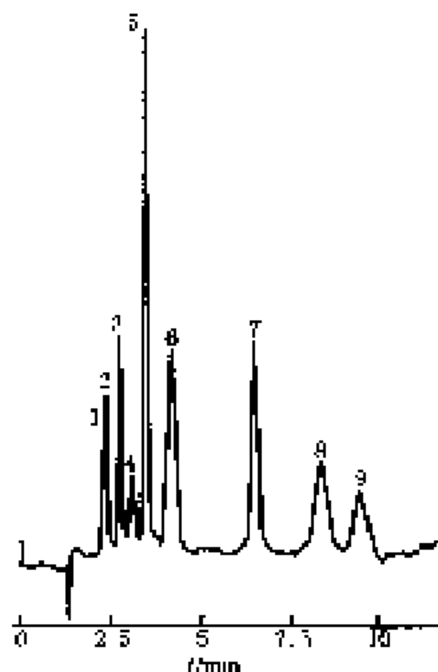


图 10-27 碳水化合物分离谱图（七）[16]

色谱峰：1—鼠李糖；2—核糖；3—木糖；4—阿拉伯糖；5—果糖；6—葡萄糖；7—蔗糖；8—麦芽糖；9—乳糖

色谱柱：Hypersil APS-2（Chrompack）键合氨基硅，10.0 cm×3.0 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈＋水（体积比＝80：20）

流　速：0.5 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：折射率（4X）

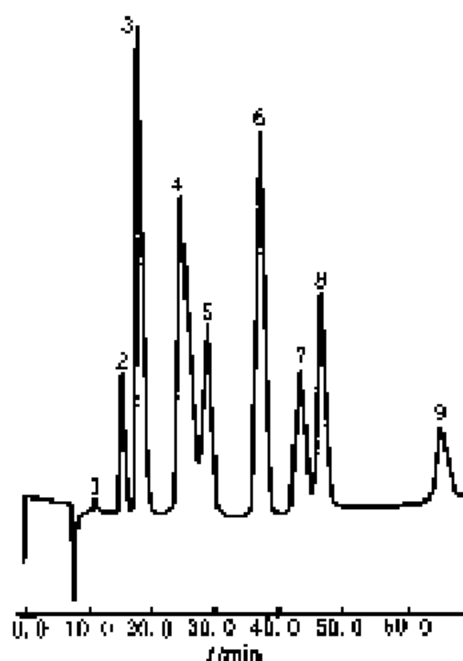


图 10-28 碳水化合物和氨基酸标准样谱图[8]

色谱峰：1—1.0 mmol·L⁻¹丝氨酸；2—1.0 mmol·L⁻¹赖氨酸；3—0.2 mmol·L⁻¹木糖醇；4—0.2 mmol·L⁻¹山梨醇；5—0.2 mmol·L⁻¹甘露醇；6—0.2 mmol·L⁻¹葡萄糖；7—0.2 mmol·L⁻¹果糖；8—1.0 mmol·L⁻¹甘氨酸；9—1.0 mmol·L⁻¹脯氨酸

色谱柱：Dionex CarboPac MA1，250 mm×4 mm（内径）

流动相：0.4 mol·L⁻¹ NaOH

流　速：0.4 ml·min⁻¹

检测器：电化学

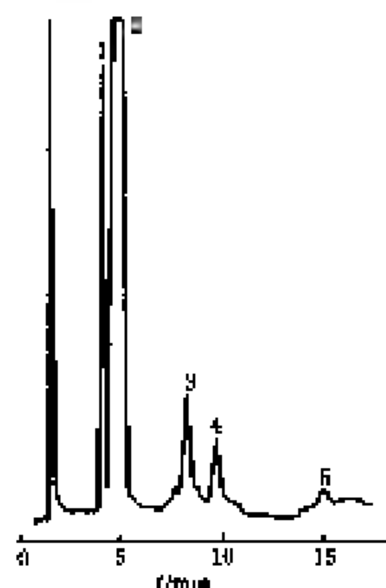


图 10-29 酶催化处理玉米淀粉残余糖浆谱图（一）[37]

色谱峰：1—果糖；2—右旋糖；3—麦芽糖；4—异麦芽糖；5—麦芽三糖

色谱柱：Du Pont Zorbax NH_2 键合氨基硅，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈＋水（体积比＝76：24）

流　速：2.25 ml·min⁻¹

柱　温：27℃

检测器：折射率

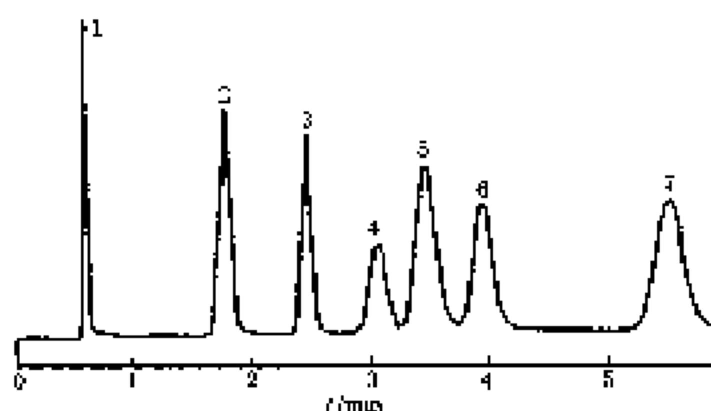


图 10-30 酶催化处理玉米淀粉残余糖浆谱图（二）[19]

色谱峰：1—水；2—葡萄糖；3—蔗糖；4—麦芽糖；5—乳糖；6—蜜二糖；7—麦芽三糖

色谱柱：Spheri-5 氨基（Applied Biosystems）键合氨基柱，10 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+水（体积比=75:25）

流 速：2.0 mL·min⁻¹

温 度：24℃

检测器：折射率



图 10-31 糖和糖苷同时分离谱图[8]

色谱峰：1—D-葡萄糖；2—麦芽糖；3—正-1-O-癸基-β-D-吡喃葡萄糖苷；4—正-1-O-癸基-β-D-麦芽糖苷

色谱柱：Hypercarb S，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：水+乙腈

梯度冲洗：水冲洗 4 min，然后水+乙腈（体积比=30:60）冲洗 12 min，最后保持色谱柱冲洗

流 速：1 mL·min⁻¹

检测器：蒸发光散射检测器

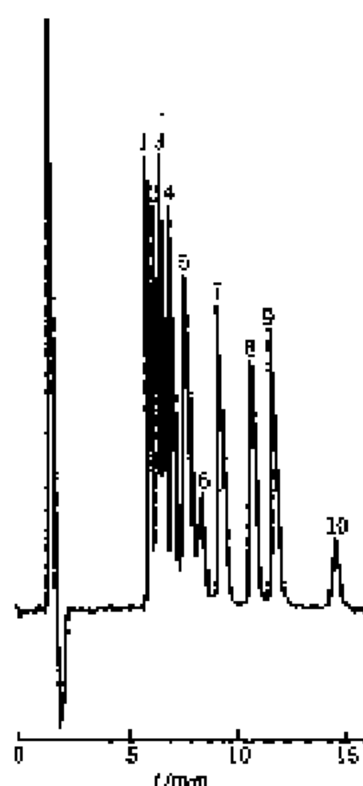


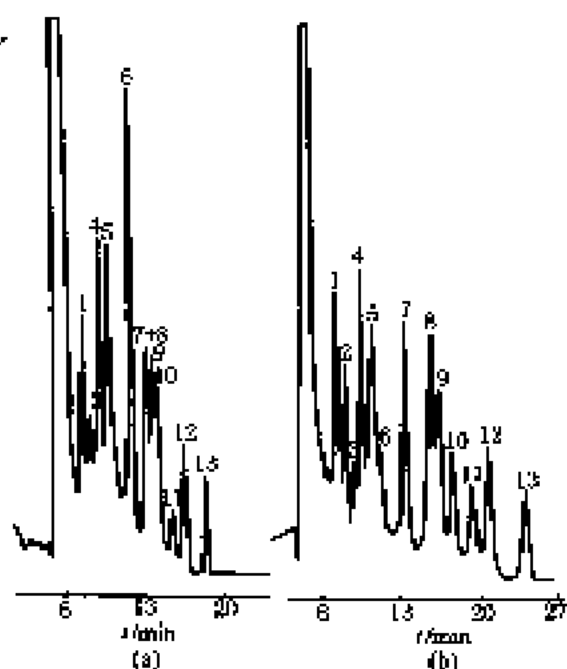
图 10-32 糖分离谱图[14]

色谱峰：1—N-乙酰半乳糖胺；2—N-乙酰葡萄糖胺；3—甘露糖；4—半乳糖；5—葡萄糖；6—山梨糖；7—果糖；8—核糖；9—木糖；10—岩藻糖

色谱柱：Cosmosil C_{18}，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：30%（体积分数）乙腈水溶液

检测器：示差检测



色谱峰：1—鼠李糖；2+3—木糖+树胶醛糖；4—果糖；5—葡萄糖；6—蔗糖；7+8—纤维二糖—半乳糖；9—海藻糖；10—乳糖；11—蜜二糖；12—松三糖；13—棉籽糖

色谱柱：(a) Shim-Pack CLC-NH_2 柱，150 mm×6 mm（内径）；(b) Lichrosorb-NH_2，250 mm×5 mm（内径）

流动相 乙腈+H_2O（体积比=75:25）

检测器：蒸发光散射检测

图 10-33 糖的标准溶液谱图[19]

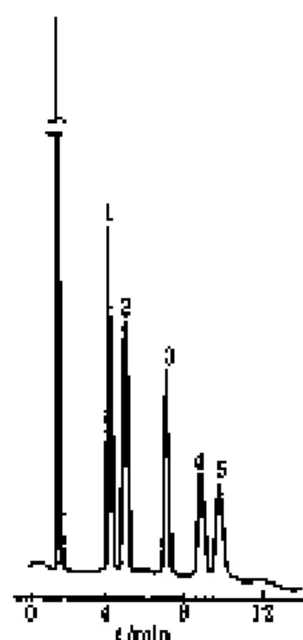


图 10-34 糖类化合物分离谱图[32]

色谱峰：1—果糖；2—葡萄糖；3—蔗糖；4—麦芽糖；5—乳糖

色谱柱：Supelcosil LC-NH_2 键合氨基柱，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+水（体积比=75:25）

流 速：2 ml·min^{-1}

检测器：折射率

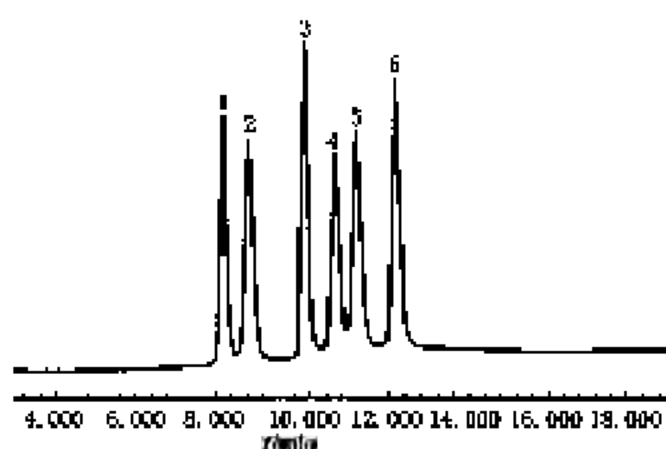


图 10-35 糖混合物分离谱图[31]

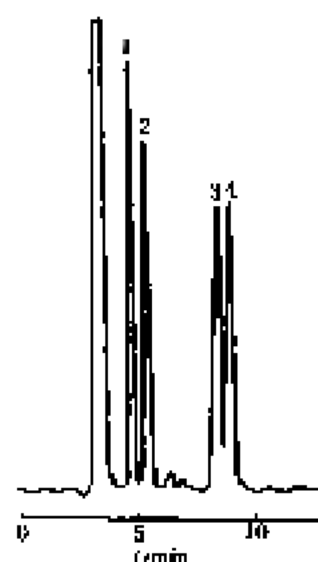
色谱峰：1—果糖；2—葡萄糖；3—蔗糖；4—麦芽糖；5—乳糖；6—棉子糖

色谱柱：DuPont PRO-10 RP-18，0.46 cm×25 cm，10 μm

流动相：A 乙腈，B 水

梯度冲洗：15%B $\xrightarrow{10\ \text{min以上}}$ 40%B

检测器：蒸发光散射检测



色谱峰：1—甘油；2—季戊四醇；3—山梨醇；4—甘露糖醇

色谱柱：polymer-coated NH_2，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：40℃

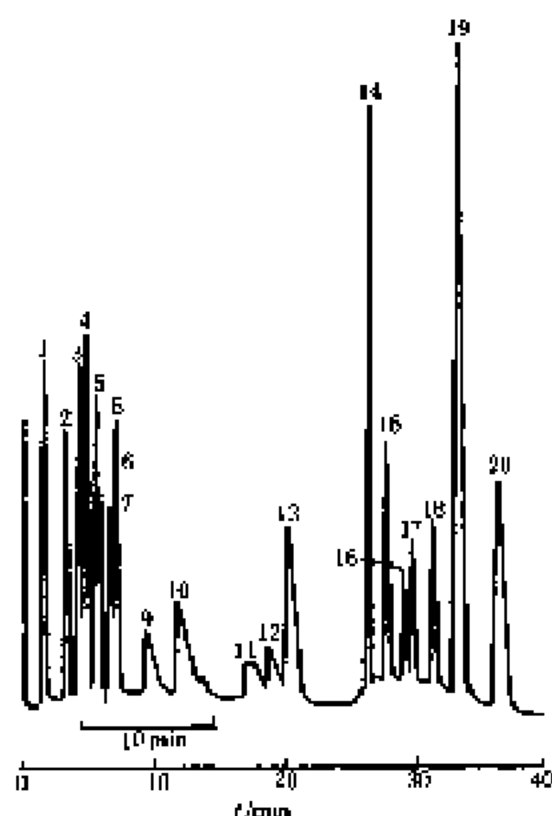
流动相：乙腈+水（体积比=85∶15）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：RI

图 10-36　糖醇谱图

第二节　氨基酸类色谱图



色谱峰：

1—精氨酸；2—赖氨酸；3—谷氨酰胺；4—天冬酰胺；5—苏氨酸；6—丙氨酸；7—甘氨酸；8—丝氨酸；9—缬氨酸；10—脯氨酸；11—异亮氨酸；12—亮氨酸；13—蛋氨酸；14—组氨酸；15—苯丙氨酸；16—谷氨酸；17—天冬氨酸；18—半胱氨酸；19—酪氨酸；20—胱氨酸

色谱柱：As-8阴离子交换柱 AG-6 作为保护柱

流　速：1.6 ml·min^{-1}

流动相：A. 0.56 mol·L^{-1} NaOH+0.64 mol·L^{-1} $H_2B_4O_7$

B. 0.23 mol·L^{-1} NaOH+0.005 mol·L^{-1} $Na_2B_4O_7$

C. 0.08 mol·L^{-1} NaOH+0.08 mol·L^{-1} $Na_2B_4O_7$+2%甲醇

D. 0.4 mol·L^{-1} NaOAC+0.001 mol·L^{-1} NaOH+2%甲醇

梯度种类：

时间/min	各溶剂比例/%		
A	B	C	D
0.0	100		
4.0	100		
4.1	100		
13.9	100		
14		100	
26.8(进样)		100	
28.0		100	
40.0		100	
46.1		80	10
56.0			100

检测器：电化学

图 10-37　20 种氨基酸 LC/PS-PCD 谱图

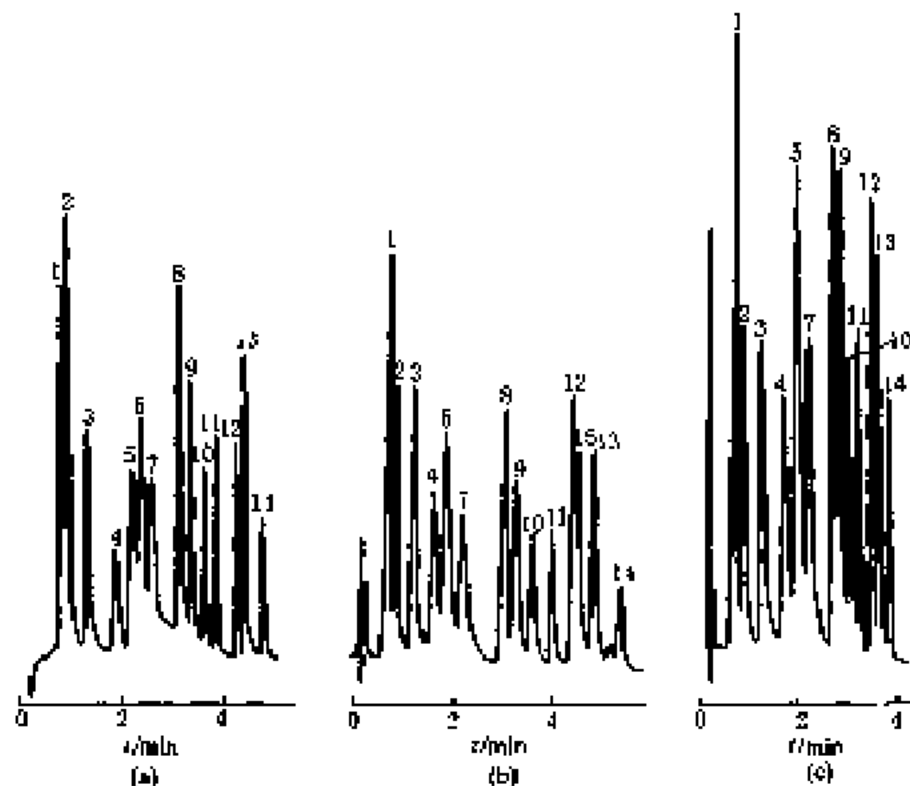


图 10-38　19 种氨基酸分离色谱图（一）[106]

色谱峰：1—磺基丙氨酸；2—谷氨酸；3—天冬酰胺；4—丝氨酸；5—甘氨酸；6—苏氨酸；7—丙氨酸；8—酪氨酸；9—脯氨酸；10—缬氨酸；11—蛋氨酸；12—亮氨酸；13—色氨酸；14—苯丙氨酸；15—异亮氨酸

色谱柱：聚合十八烷基氧化铝，30.0 mm×4.6 mm

流动相：(a) 连续线性梯度 0~7 min　5.0%至 6.5%（φ）乙腈，0~10 min　6.5%至 10.0%（φ）乙腈，6~2 min 1%至 40.0%（φ）乙腈，~10 mmol·L⁻¹磷酸钠含 0.5 mmol·L⁻¹ NaCl 和 0.008（φ）三乙胺（pH6.0）

(b) 线性梯度 0~7 min　5.0%至 40.0%（φ）乙腈，~50 mmol·L⁻¹磷酸盐（pH6.0）

(c) 连续线性梯度 0~1 min　5.0%至 6.5%（φ）乙腈，3.0 min　6.5%至 40.0%（φ）乙腈，~50 mmol·L⁻¹磷酸钠 pH6.0

流　速：2.0 mL·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

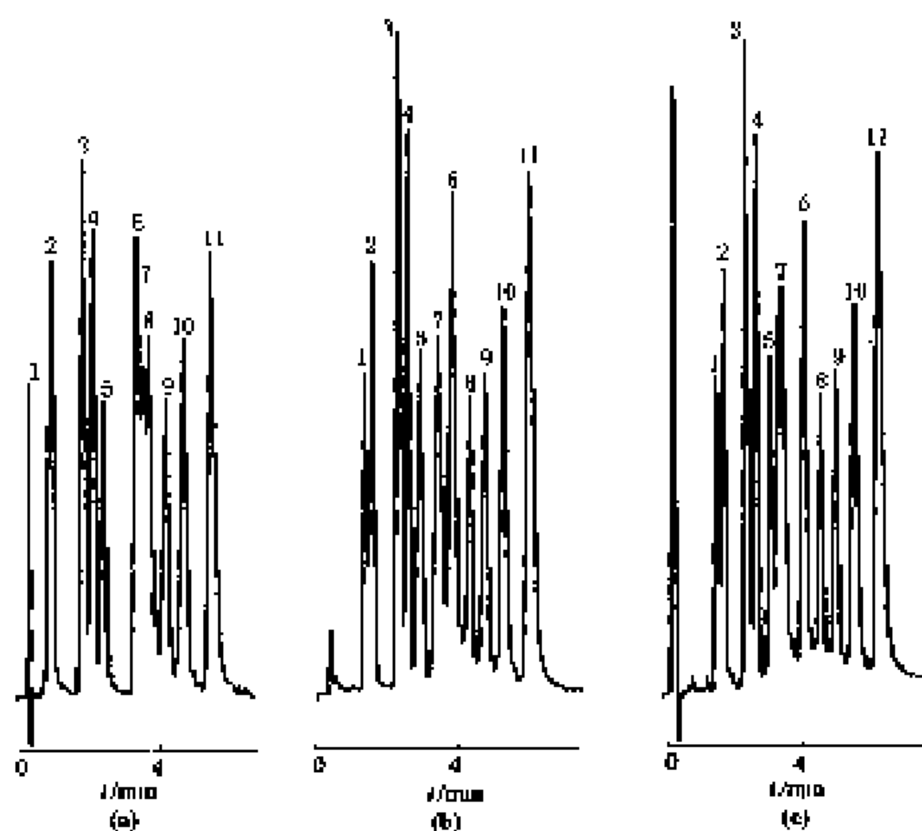


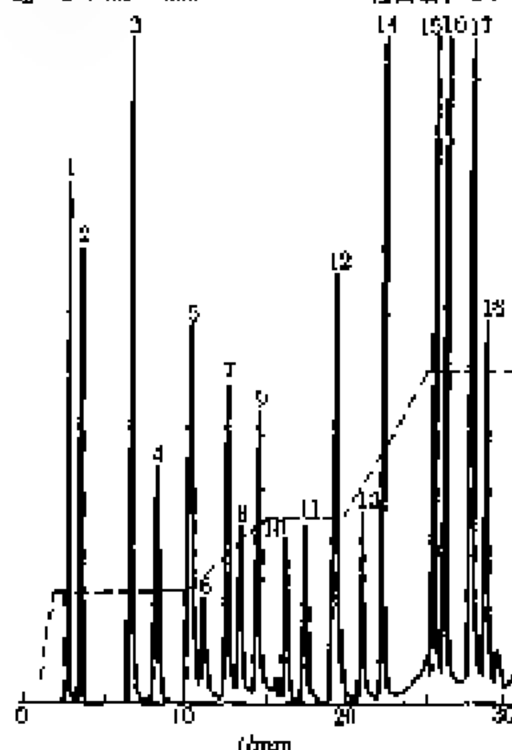
图 10-39　11 种氨基酸分离色谱图（二）[16a]

色谱峰：1—天冬氨酸；2—谷氨酸；3—天冬酰胺；4—谷氨酰胺；5—苏氨酸；6—甘氨酸；7—精氨酸；8—缬氨酸；9—蛋氨酸；10—亮氨酸；11—色氨酸

色谱柱：聚合十八烷基氧化铝，500 mm×4.6 mm

流动相：线性梯度 2.0 min 6.4%至 14.0%（φ）乙腈，9.0 min 14.0%至 30.0%（φ）乙腈，含 80 mmol·L^{-1}磷酸钠和 (a) 0 mmol·L^{-1}酒石酸；(b) 50.0 mmol·L^{-1}酒石酸；(c) 100.0 mmol·L^{-1}酒石酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}　　检测器：UV (254 nm)



色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Asn；4—Ser；5—Gln；6—His；7—Hser；8—Gly；9—Thr；10—Arg；11—β-Ala；12—Ala；13—GABA；14—Tyr；15—Val；16—Phe；17—Ile；18—Leu

色谱柱：Spherisorb ODS，15 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A. $NaNO_3$ 处理的 0.01 mol·L^{-1}二氢正磷酸盐，离子强度为 0.08 mol·L^{-1}，四氢呋喃 1%；B. 甲醇

检测器：荧光检测器（λ_{ex}=340 nm，λ_{em}=425 nm）

图 10-40　OPA-氨基酸的标准物分离谱图[25]

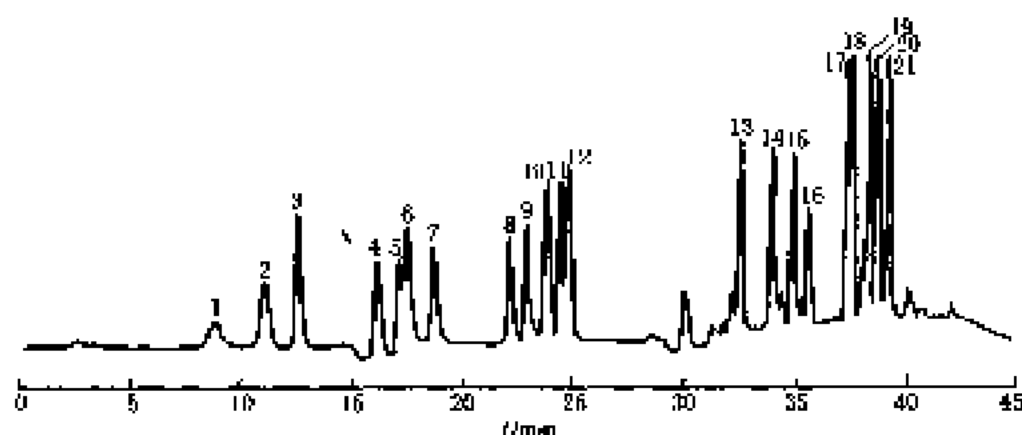


图 10-41 PTC-氨基酸标准混合物分离谱图[26]

色谱峰：1—GLU；2—ASP；3—SER；4—HYP；5—GLY；6—GLN；7—ASN；8—HIS；9—THR；10—ALA；11—ARG；12—PRO；13—TYR；14—VAL；15—MET；16—CYS；17—ILE；18—LEU；19—PHE；20—TRP；21—LYS

色谱柱：填充 C_{18} Ultrasphere ODS 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：溶剂 A　0.115 mol·L⁻¹ NH_4Ac（pH6.9）

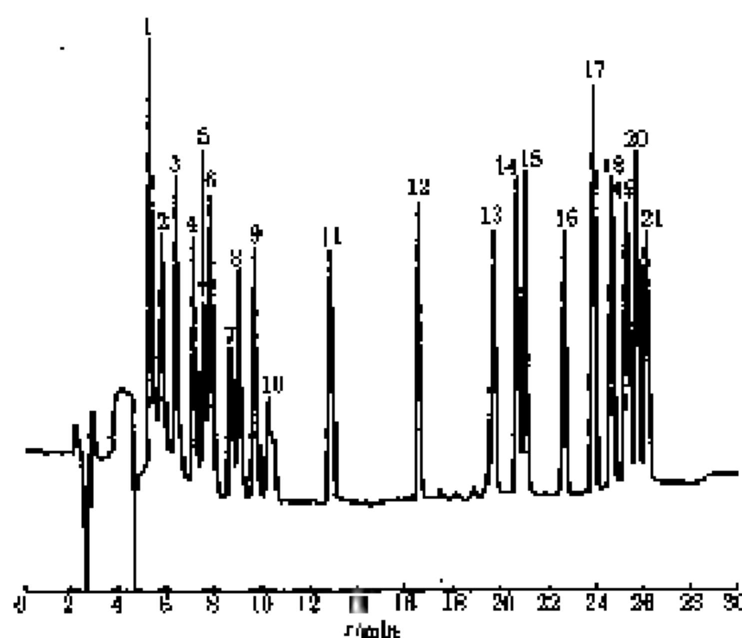
　　　　溶剂 B　乙腈-甲醇-水（体积比＝44：10：46）＋0.22 mol·L⁻¹ NH_4Ac（pH6.0）

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0.0	0
0.1	15
15.0	50
30	100
37.0	0
50.0	结束

流　速：2.0 ml·min⁻¹

检测器：荧光（λ_{ex}＝360 nm，λ_{em}＝455 nm）



色谱峰：1—His；2—Asp；3—Asn；4—Arg；5—Ser；6—Gln；7—Thr；8—Gly；9—Glu；10—DMPTU；11—Ala；12—Tyr；13—Pro；14—Met；15—Val；16—DPTU；17—Trp；18—Phe；19—Ile；20—Lys；21—Leu

色谱柱：Zorbax SB C8，250 mm×2.1 mm（内径），5 μm

柱　温：55℃

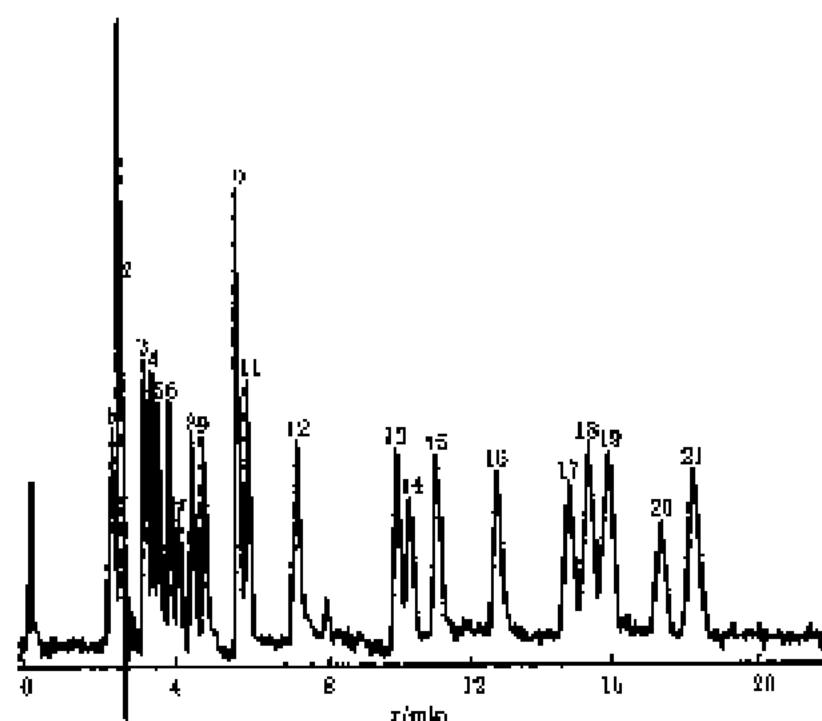
流动相：A. 0.04mol·L⁻¹乙酸，用5%四氢呋喃-三乙胺调节 pH 至 4.1；B. 乙腈

梯度冲洗：12%B $\xrightarrow{18\ \mathrm{min}}$ 38%B

流　速：0.25 ml·min⁻¹

检测器：UV

图 10-42　PTH 氨基酸的分离谱图（一）[27]



色谱峰：1—CYS；2—GLU；3—ASN；4—GLN；5—SER；6—THE；7—杂质；8—GLY；9—HIS；10—ALA；11—TYR；12—ARG；13—MET；14—VAL；15—PRO；16—TRP；17—PHE；18—LYS；19—ILE；20—LEU；21—NLE

色谱柱：键合 C-18 (ISCO)，25 cm×2 mm（内径），3 μm

流动相：乙腈-50 mmol·L^{-1} 乙酸（体积比=40∶60），用 $NH_3·H_2O$ 将 pH 调至 4.5

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV (269 nm)

图 10-43　PTH 氨基酸的分离谱图（二）[23]

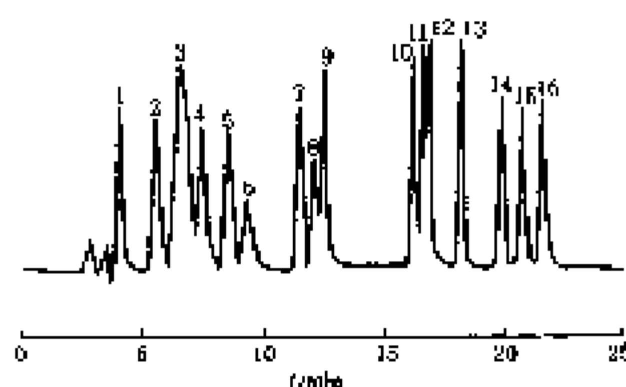


图 10-44　PTH 氨基酸标准混合物分离谱图[24]

色谱峰：1—ASP，2—ASN；3—GLN+GLU+SER；4—THR；5—GLY；6—ALA；7—ARG；8—TYR；9—MET；10—VAL；11—PRO；12—TRP；13—PHE；14—ILE；15—LEU；16—LEU

色谱柱：填充 C_{18} Ultrasphere ODS 填料，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：62℃

流动相：溶剂 A 0.01 mol·L^{-1} NaAc（pH4.5），溶剂 B 乙腈

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0.0	24
6.1	44
14.0	24
25.0	结束

流　速　1.0 ml·min^{-1}

检测器　荧光（λ_{ex}=360 nm，λ_{em}=455 nm）

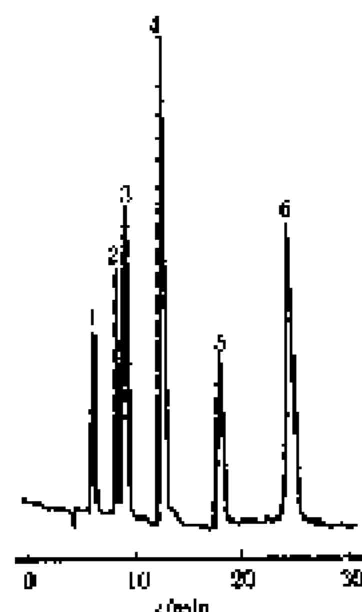


图 10-45　PTH 氨基酸衍生物分离谱图[24]

色谱峰：1—PTH-Asp；2—PTH-Asn；3—PTH-Arg；4—PTH-Gly；5—PTH-Ala；6—PTH-Tyr

色谱柱：μBondapak C-18

柱　温：27℃

流动相：0.1 mol·L^{-1} 乙酸（pH4.5）+0.1 mol·L^{-1} KNO_3+3%乙腈

流　速：0.9 ml·min^{-1}

检测器：直流阳极检测，Au，+0.7V（vs SCE）

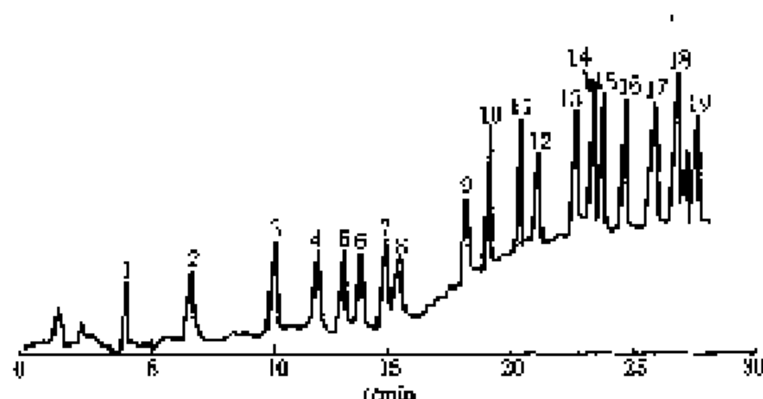


图 10-46　PTH 氨基酸梯度分离谱图[30]

色谱峰：1—CYS；2—ASP；3—ASN；4—SER；5—THR；6—GLY；7—GLN；8—GLU；9—HIS；10—ALA；11—TYR；12—ARG；13—PRO；14—MET；15—VAL；16—TRP；17—LYS；18—PHE；19—LEU

色谱柱：Ultrasphere（Beckman）键合苯基，25 cm×2.0 mm（内径），5 μm

流动相：A. 5 mmol·L⁻¹ 乙酸钠（pH4.5）（90%）＋甲醇

B. 甲醇（80%）＋丙醇（20%）5：95 的 B：A 至 15：85 的 B：A（10 min 内）接着 B：A（45：55）保持 8 min

柱　温：（37～40）℃

流　速：0.3 ml·min⁻¹

检测器：UV（269 nm）

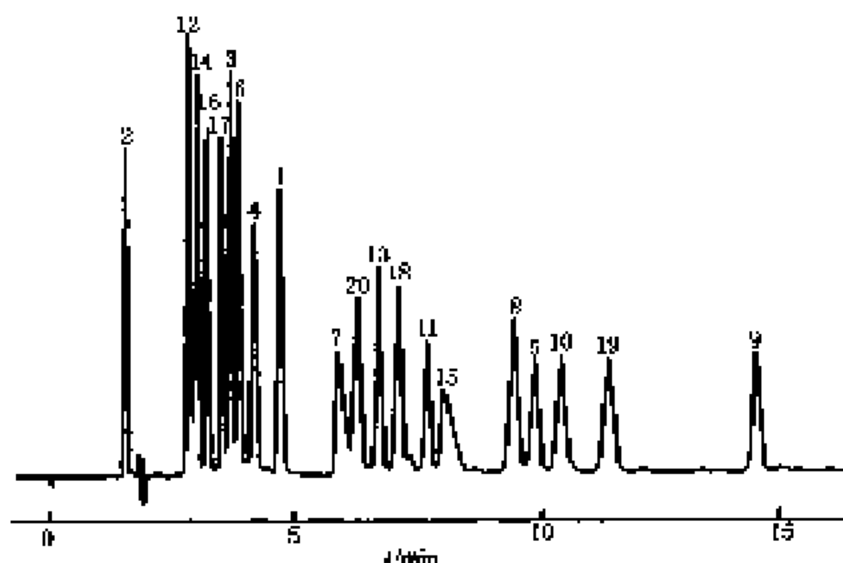


图 10-47　PTH 氨基酸等度分离谱图（一）[28]

色谱峰：1—丙氨酸；2—半胱氨酸；3—天冬氨酸；4—谷氨酸；5—苯丙氨酸；6—甘氨酸；7—组氨酸；8—异亮氨酸；9—赖氨酸；10—亮氨酸；11—蛋氨酸；12—天冬酰胺；13—脯氨酸；14—谷氨酰胺；15—精氨酸；16—丝氨酸；17—苏氨酸；18—缬氨酸；19—色氨酸；20—酪氨酸

色谱柱：Zorbax PTH（duPont）键合 Cyano 柱，25 cm×4.6 mm（内径），6 μm

流动相：缓冲液-乙腈-四氢呋喃（66：18：16），缓冲液：6.8 mmol·L⁻¹醋酸盐缓冲液，以 NaOH 调 pH＝3.25）

流　速：1.5 ml·min⁻¹

柱　温：55℃

检测器：UV（254 nm）

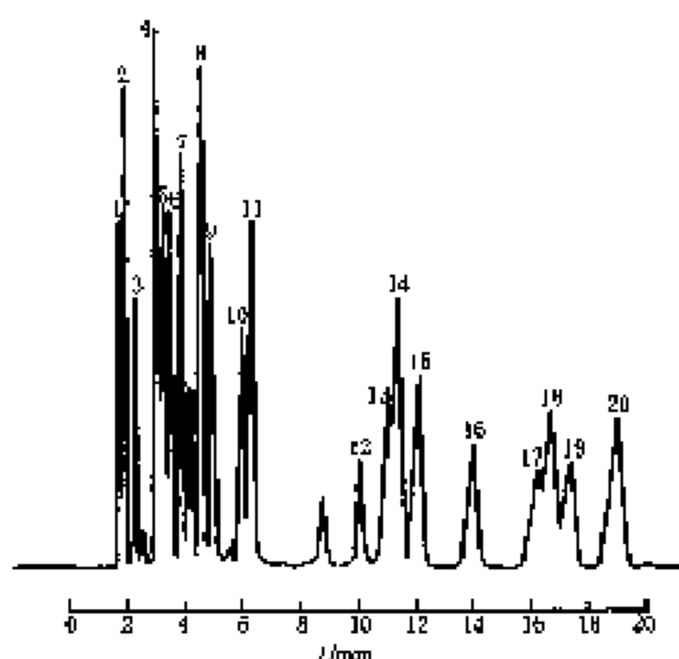


图 10-48 PTH 氨基酸等度分离谱图（二）[23]

色谱峰：1—半胱氨酸；2—天冬氨酸；3—谷氨酸；4—天冬酰胺；5—谷氨酰胺；6—丝氨酸；7—苏氨酸；8—甘氨酸；9—组氨酸；10—丙氨酸；11—酪氨酸；12—精氨酸；13—脯氨酸；14—蛋氨酸；15—缬氨酸；16—色氨酸；17—苯丙氨酸；18—赖氨酸；19—异亮氨酸；20—亮氨酸

色谱柱：Microsorb TM (Rainin) 键合十八烷基硅，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈-0.01mol·L^{-1}乙酸钠（pH4.5）（体积比＝40.5∶59.5）

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：40℃　　　检测器：UV（254 nm）

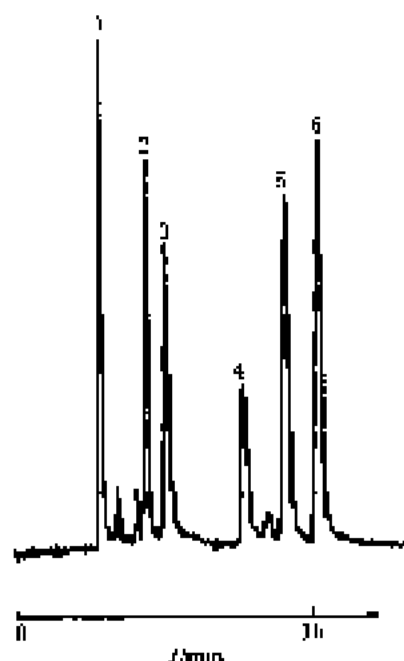


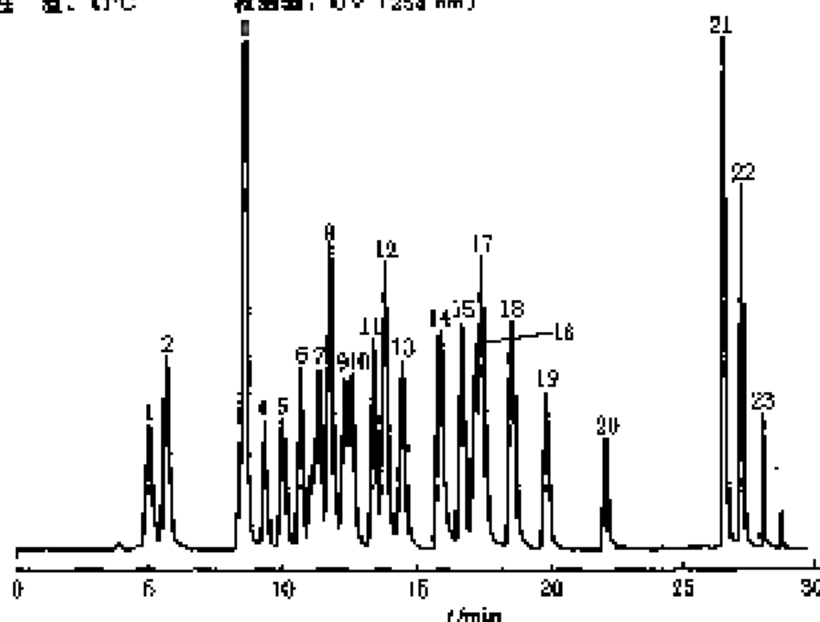
图 10-49 PTH 氨基酸的分离谱图[20]

色谱峰：1—PTH-丙氨 SLC；2—PTH-酪氨酸；3—PTH 蛋氨酸；4—PTH-苯丙氨酸；5—PTH 亮氨酸；6—PTH-正亮氨酸

色谱柱：LC 填充 RP-18，15 cm×Φ80 mm（内径）

流动相：水＋甲醇（体积比＝50∶50）

检测器：火焰电离检测



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—DABSYL OH；4—ASN；5—GLN；6—SER；7—THR；8—GLY；9—ALA；10—ARG；11—未知；12—PRO；13—VAL；14—MET；15—ILE；16—LEU；17—TRP；18—PHE；19—NH_3；20—CYS；21—LYS；22—HIS；23—TYR

色谱柱：填充 Zorbax ODSC$_{18}$，100 mm×3.0 mm

流动相：A 25 mmol·L^{-1} NaAC（pH6.5）＋乙腈＋甲醇（体积比＝72∶20∶10）
B 25 mmol·L^{-1} NaAC（pH6.5）＋乙腈＋甲醇（体积比＝10∶45∶45）

图 10-50 20 种氨基酸的丹磺酰衍生物分离谱图[31]

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0～20	0～50
20～27	50～100
27～32	100

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV-Vis（436 nm）

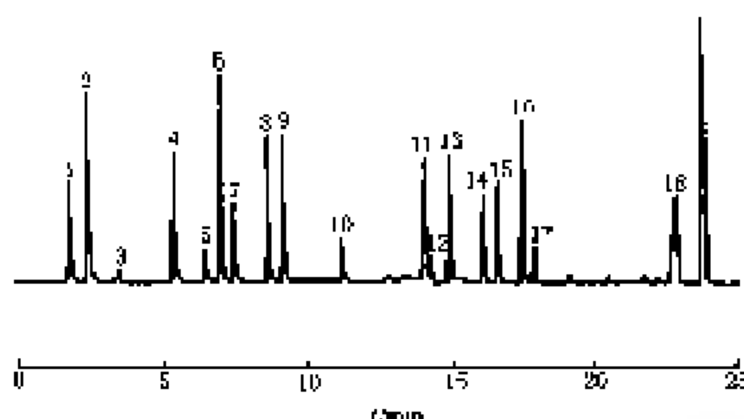


图 10-51　大豆中酶水解产物的邻苯二醛芴基甲基氯甲酸酯氨基酸衍生物谱图[24]

色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Cys；4—Ser；5—His；6—Gly；7—Thr；8—Arg；9—Ala；10—Tyr；11—Val；12—Met；13—Trp；14—Phe；15—Ile；16—Leu；17—Lys；18—Pro

色谱柱：Hypersil ODS C_{18}，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A. 10 mmol·L^{-1}醋酸盐缓冲液（用醋酸调 pH 至 7.5），内含 0.8%THF

B. A＋甲醇＋乙腈（体积比＝20∶50∶30）

检测器：荧光检测（邻苯二醛衍生，λ_{ex}＝335 nm，λ_{em}＝440 nm；芴基甲基氯甲酸酯衍生，λ_{ex}＝260 nm，λ_{em}＝315 nm）

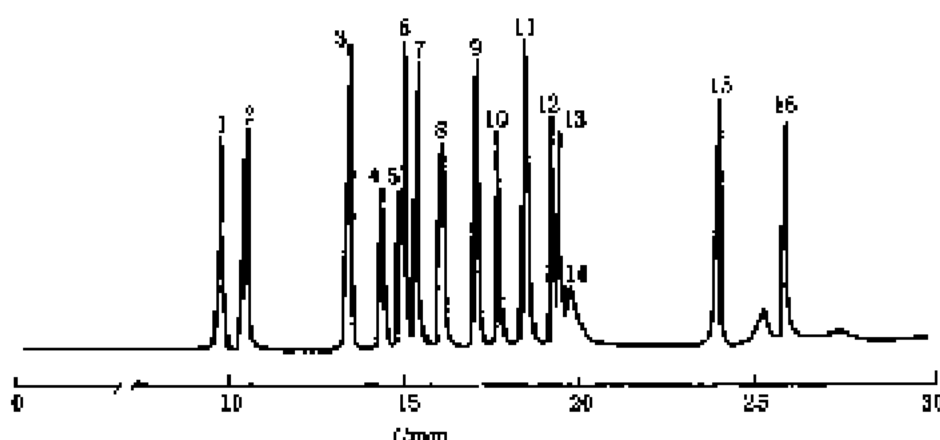


图 10-52　丹酰氨基酸标准混合物谱图[16]

色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN，HYP；4—SER；5—THR；6—GLY；7—ALA；8—PRO；9—VAL；10—MET；11—LEU＋ILE；12—PHE；13—TRP；14—CYS；15—LYS；16—TYR

色谱柱：贝克 C_{18} Ultrasphere ODS 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：62℃

流动相：A. 30 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4 缓冲液（用磷酸调节 pH 至 7.6）

B. 乙腈

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0.0	10.0
0.1	45.0
23.0	10.0

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}＝360 nm，λ_{em}＝455 nm）

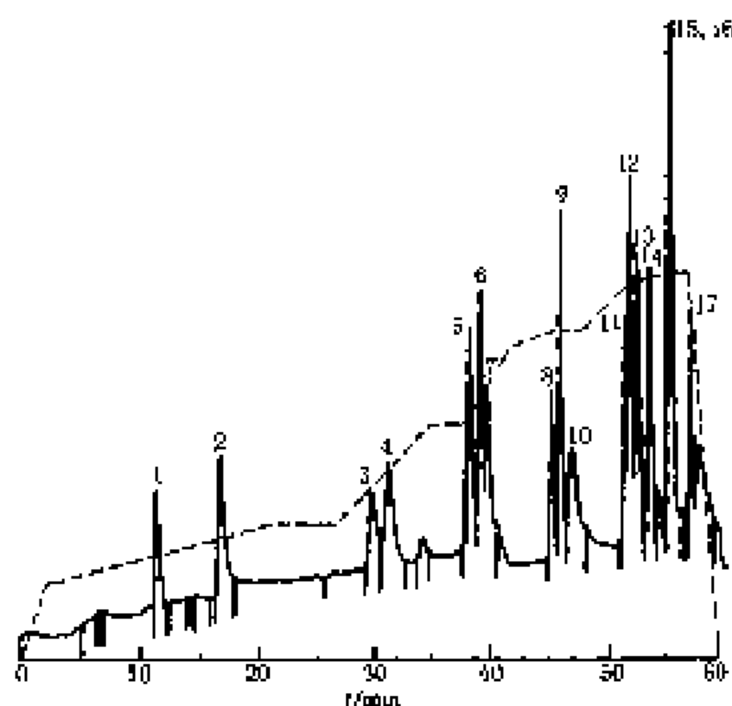


图 10-53 水解氨基酸混合物的分离谱图[9]

色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Ser；4—His；5—Arg；6—Gly；7—Thr；8—Tyr；9—Ala；10—X；11—Trp；12—Val；13—Met；14—Phe；15—Ile；16—Leu；17—Lys

色谱柱：LiChrospher 100 RP-18，25 cm×3.9 mm（内径），5 μm

流动相：A：φ=96% 0.05 mol·L⁻¹柠檬酸钠+0.05 mol·L⁻¹Na_2HPO_4缓冲液（pH6.5）—φ=2%乙腈+φ=2%四氢呋喃
B 甲醇-乙腈-水

检测器：荧光检测器（λ_{ex}=334 nm，λ_{em}=425 nm）

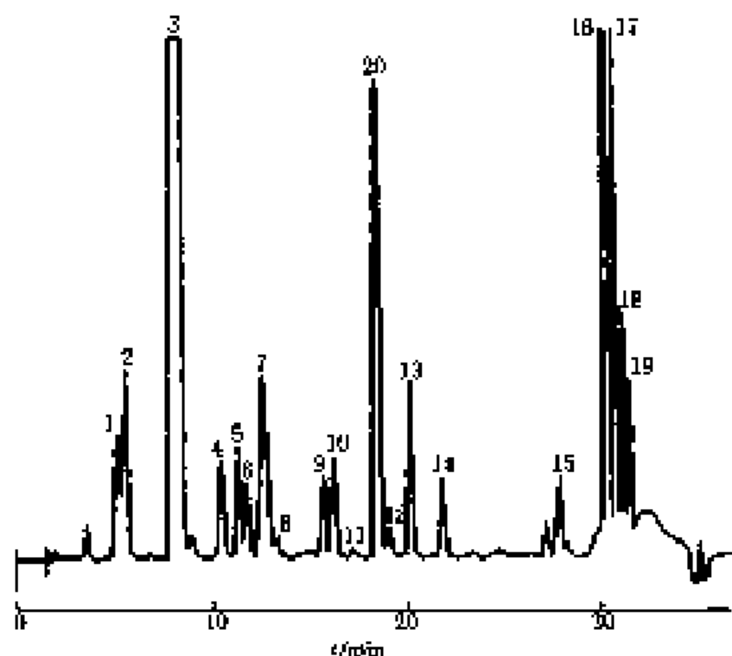


图 10-54 牛血清蛋白的酸水解氨基酸丹磺酰衍生化产物的分离谱图[10]

色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—DABSYL-OH；4—SER；5—THR；6—GLY；7—ALA；8—ARG；9—VAL；10—PRO；11—MET；12—TRP；13—LEU；14—PHE；15—CYS；16—未知物；17—LYS；18—HIS；19—TYR；20—ILE

色谱柱：填充Hypersil ODS 150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：25 mmol·L⁻¹NaAC（pH6.5）+乙腈（体积比=72：28）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV-Vis（436 nm）

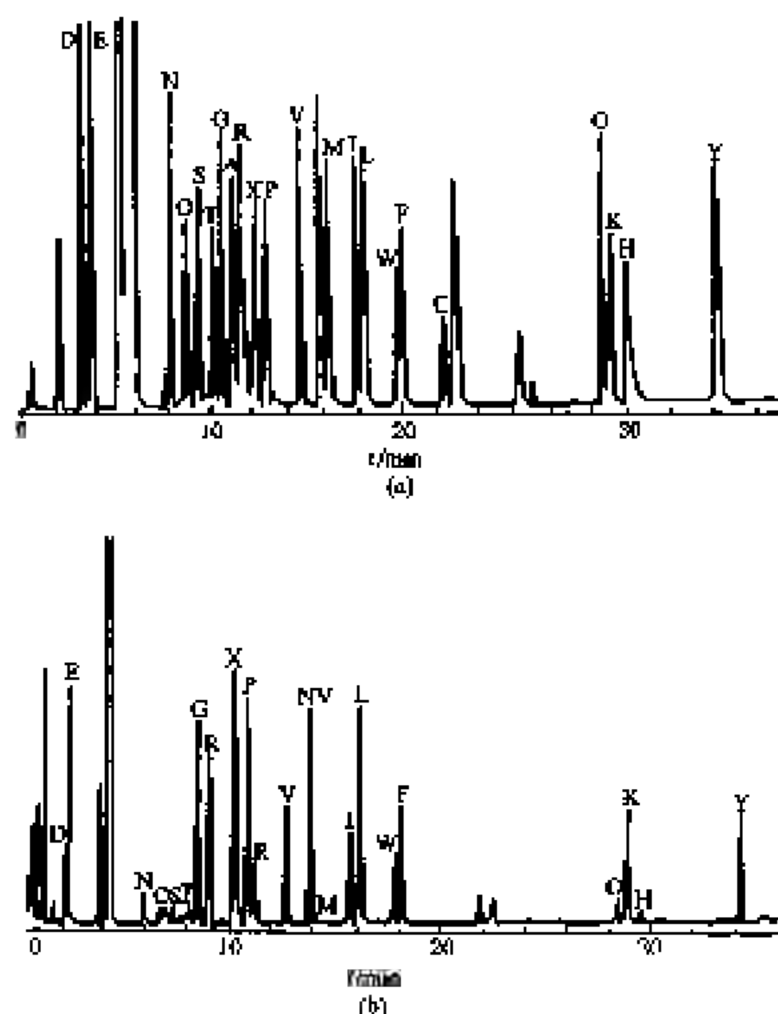


图 10-65　发酵面团中的丹酰氨基酸谱图[30]

(a) 标准氨基酸；(b) 发酵面团样品

色谱峰：(D) Asp，(E) Glu，(N) Asn，(Q) Gln，(S) Ser，(T) Thr，(G) Gly，(A) Ala，(X)，γ-氨基丁酸，(P) Pro，(R) Arg，(V) Val，(M) Met，(I) Ile，(L) Leu，(W) Trp，(F) Phe，(C) Cys，(O) Orn，(K) Lys，(H) His，(Y) Tyr

色谱柱：填充 ODS 柱体 83 mm×4.6 mm（内径），3 μm

柱　温：30℃

流动相：溶剂 A　12 mmol·L^{-1} K_2HPO_4 (pH7.0)

　　　　溶剂 B　乙腈

线性梯度冲洗：10%B $\xrightarrow{48\ min}$ 45.6%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV

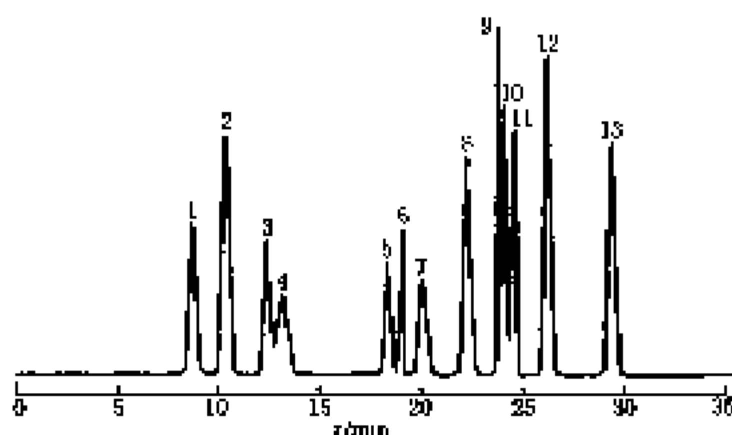


图 10-56　未衍生化氨基酸标准样分离谱图[8]

色谱峰：1—Asp，2—His，3—Arg，4—Pro，5—Val，6—Nval，7—Met，8—DOPA，9—Tyr，10—Ile，11—Leu，12—Phe，13—Trp

色谱柱：RP-8 Spherisorb，100×4.6 mm（内径）

流动相：溶剂 A TFA（pH1.87）

溶剂 B TFA（pH1.87）+乙腈（体积比=50：50）

梯度冲洗：

时间/min	流速/(ml·min⁻¹)	φ(B)/%
0	0.3	0
12	0.3	0
20	1.0	35
25	1.2	35
28	1.5	40

检测器：蒸发光散射

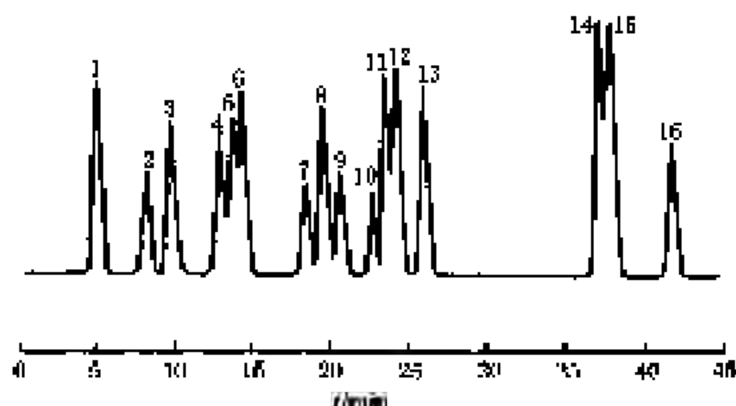


图 10-57　未衍生化氨基酸标准样离子交换 HPLC 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—Asp，2—Glu，3—Cys，4—Ser，5—Thr，6—Tyr，7—Gly，8—Ala，9—Met，10—Val，11—Trp，12—Phe，13—Leu，14—His，15—Lys，16—Arg

色谱柱：填充 Partisil 10SCX，250 mm×6.35 mm（内径）

流动相：溶剂 A TFA（pH4.30）

溶剂 B TFA 0.40%（体积分数）

梯度冲洗：溶剂 A 等度冲洗 15 min，接着线性梯度冲洗到 70%B 15 min，最后保持 70%B 冲洗

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：蒸发光散射式

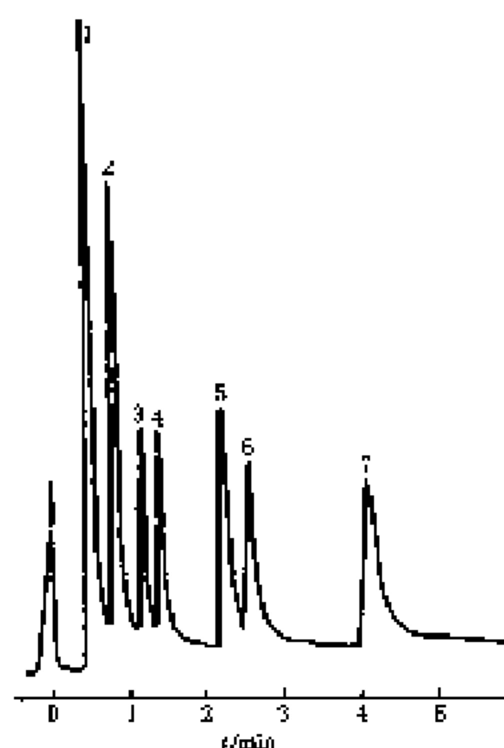


图 10-58 生物胺和氨基酸前体分离谱图[?]

色谱峰：1—甲苯；2—苯乙胺；3—苯丙氨酸；4—酪胺；5—酪氨酸；6—多巴胺；7—多巴

色谱柱：氰基硅胶

流动相：丁醇－己烷；乙酸乙酯＋二丁基磷酸盐＋己烷

检测器：UV（280 nm）

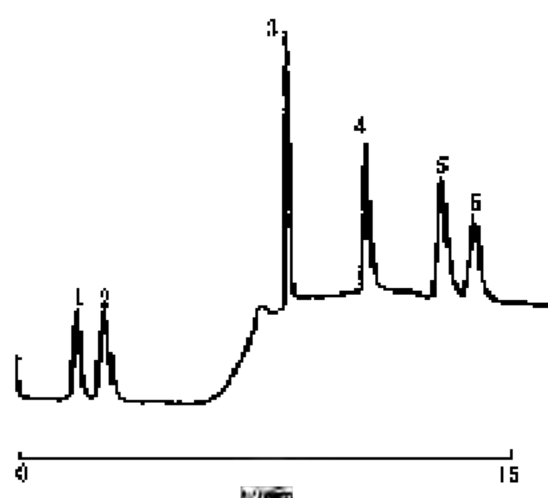


图 10-59 甲状腺原氨酸和酪氨酸标样的分离谱图[?]

色谱峰：1—DIT；2—TO；3—T2；4—T3；5—r-T3；6—T4

色谱柱：Chromspher C_{18}，100 mm×3 mm（内径），5 μm

流动相：0～3.5 min，磷酸盐缓冲液（0.05 mol·L⁻¹，pH2.5，含有 2.5 mmol·L⁻¹ 庚磺酸）＋甲醇（体积比＝65：35）3.5 min 以后，磷酸盐缓冲液（0.05 mol·L⁻¹，pH2.5，含有 2.5 mmol·L⁻¹ 庚磺酸）＋甲醇（体积比＝42.5：57.5）

检测器：UV（230 nm）

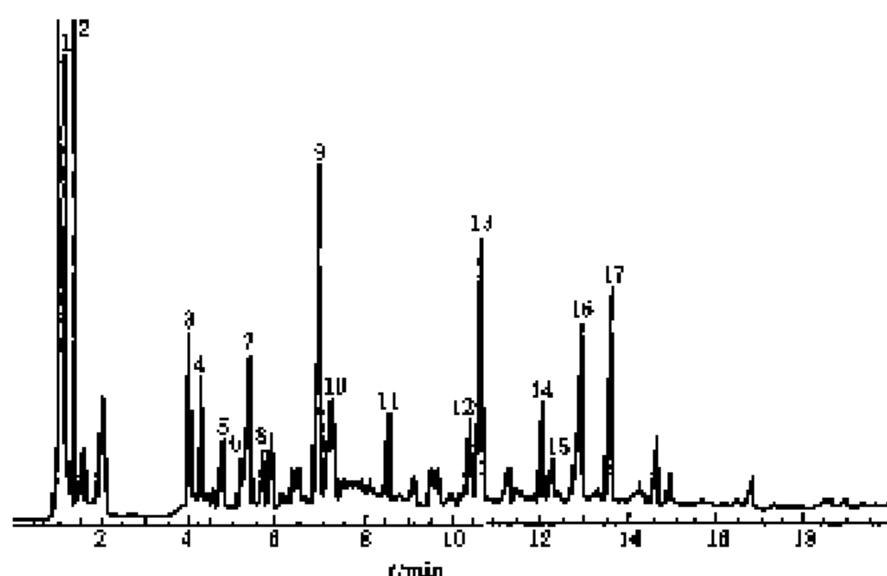


图 10-60　白葡萄酒中氨基酸的分离谱图[illegible]

色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Asn；4—Ser；5—Gln；6—His；7—Gly；8—Thr；9—Ala；10—Arg；11—Tyr；12—Val；13—Met；14—Phe；15—Ile；16—Leu；17—Lys

色谱柱：Altex超高速ODS柱，45 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A. 乙腈-水（φ=40%）；B. β-环糊精

检测器：UV（254 nm）

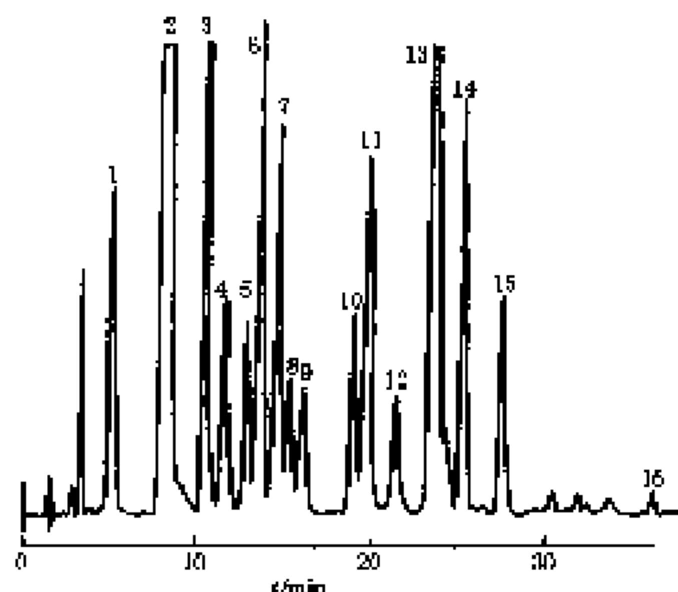


图 10-61　细胞培养基中的氨基酸丹磺酰衍生物的分离谱图[illegible]

色谱峰：1—GLU；2—丹磺酰胺；3—GLN；4—SER；5—HIS；6—GLY；7—ALA；8—ARG；9—TYR；10—VAL；11—PRO；12—MET；13—ILE；14—LEU；15—PHE；16—CYS

色谱柱：填充Hypersil ODS，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A. 100 mmol·L^{-1} NaAC（pH6.5）+乙腈+甲醇（体积比=56:16:28）

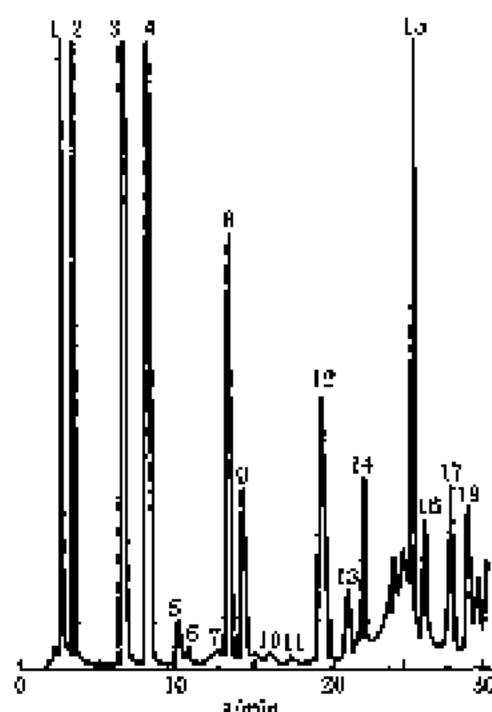
B. 100%甲醇

流　速：1 ml·min^{-1}

梯度淋洗：

时间/min	φ(B)/%	时间/min	φ(B)/%
0～5	0	35～40	40～100
5～30	0～40	40～45	100
30～35	40		

检测器：UV-Vis（436 nm）



色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Asn；4—Ser；5—Gln；6—His；7—Hser；8—Gly；9—Thr；10—Arg；11—β-Ala；12—Ala；13—GABA；14—Tyr；15—Val；16—Phe；17—Ile；18—Leu

色谱柱：Spherisorb ODS，15 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A. $NaNO_3$ 处理的 0.01 mol·L⁻¹ 二氢正磷酸盐，离子强度为 0.05 mol·L⁻¹，四氢呋喃 1%

B. 甲醇

检测器：荧光检测器（λ_{ex}＝340 nm，λ_{em}＝425 nm）

图 10-62 苹果提取物中邻苯二甲醛(OPA) 衍生氨基酸的典型色谱图[30]

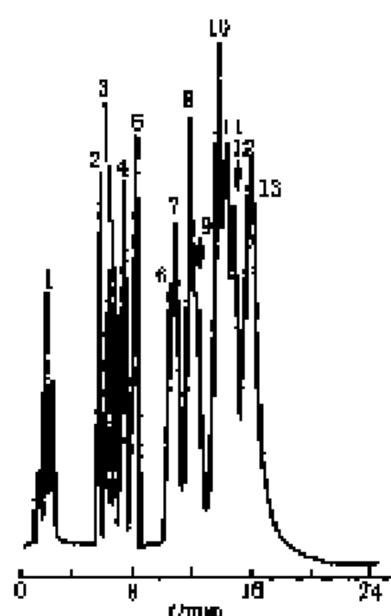


图 10-63 氨基酸的分离谱图[45]

色谱峰：1—PHE；2—LEU；3—MET；4—PRO；5—VAL；6—GLU；7—THR；8—ALA；9—ABP；10—GLN；11—SER；12—GLY；13—ASN

色谱柱：填充 PolySulfoethyl A 载体，200 mm×4.6 mm（内径）

柱 温：室温

流动相：5 mmol·L⁻¹ TEAP（pH2.8）＋80%乙腈（等度淋洗）

流 速：2 ml·min⁻¹

检测器：UV（200 nm）

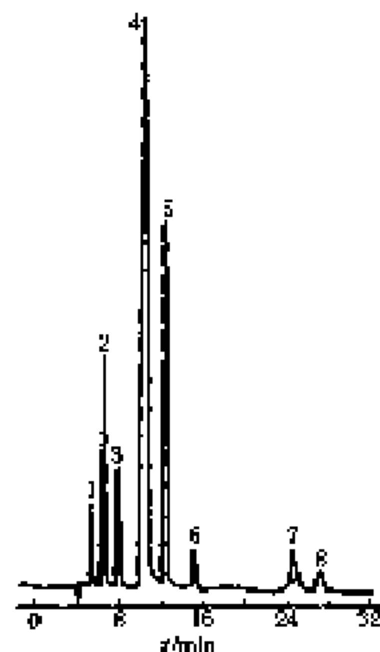


图 10-64 MTH 氨基酸衍生物分离谱图[?]

色谱峰：1—MTH-Glu；2—MTH-Gly；3—MTH-Ala；4—MTH-lys；5—MTH-Tyr；6—MTH-val；7—MTH-Ile；8—MTH-Leu

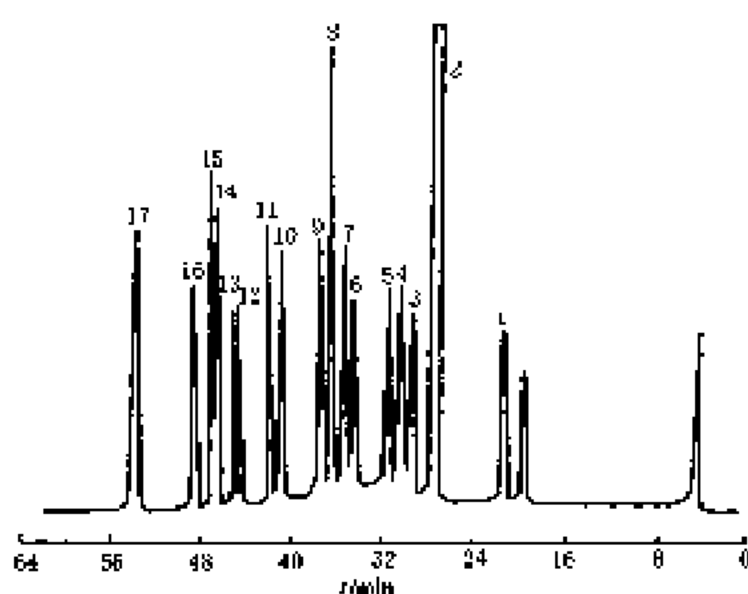
色谱柱：μBondapak C18

柱 温：27℃

流动相：0.1 mol·L⁻¹ 乙酸（pH4.5）＋0.1 mol·L⁻¹ KNO_3 ＋3%乙醇

流 速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：直流阳极检测，Au，1.2V（vs. SCE）



色谱峰：1—ASP；2—HSAA；3—GLU；4—SER；5—HIS；6—GLY；7—ARG；8—HSAAOH；9—THR；10—ALA；11—PRO；12—CYS；13—TYR；14—VAL；15—MET；16—LYS；17—PHE

色谱柱：Spherisorb C_{18}，200 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：25℃

流动相：A. 20 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$（pH7.0）+10 mmol·L^{-1}三乙胺(pH 7.0)-甲醇(体积比=90:10)

B. 乙腈-水（体积比=75:25）

梯度冲洗：

时间/min	梯度
0~6	10%B
10~15	10~15%B
15~25	15%B
25~30	15~25%B
30~40	25~40%B
40~45	40~50%B
45~55	50~80%B
55~65	80~99%B

流　速：0.9 mL·min^{-1}

检测器：荧光检测器（λ_{ex}=365 nm，λ_{em}=455 nm）

图 10-65　氨基酸(HSAA 衍生化）分离谱图[46]

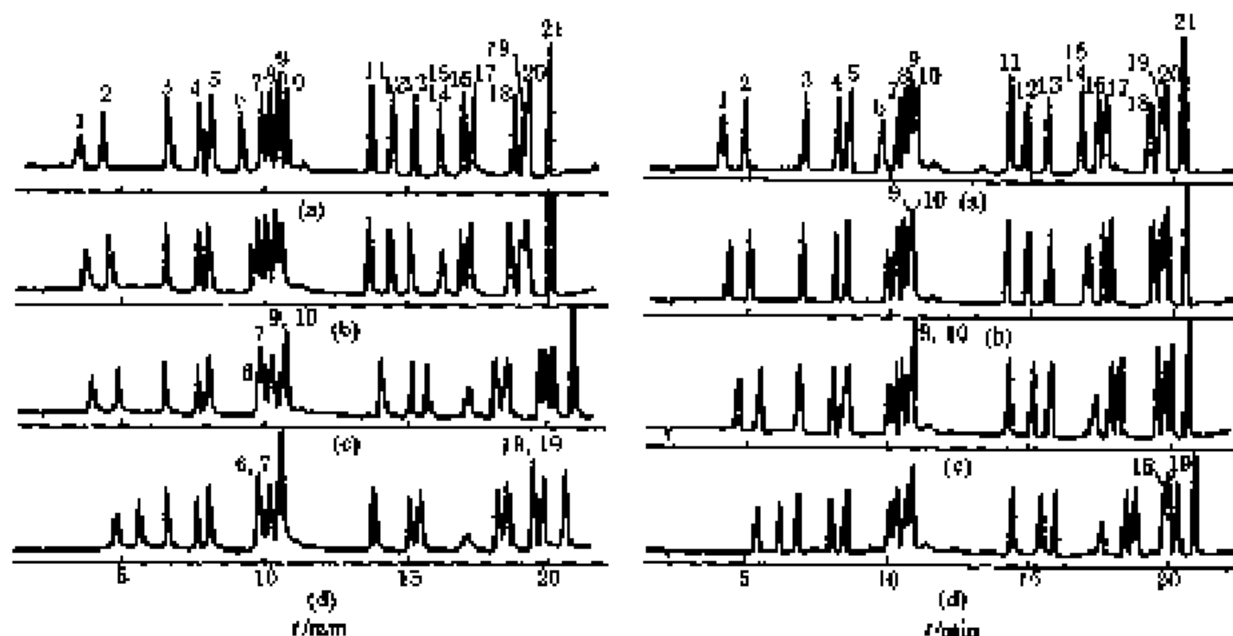


图 10-66　氨基酸在不同洗脱剂上分离谱图[48]

色谱峰：1—天冬氨酸；2—谷氨酸；3—羟基脯氨酸；4—丝氨酸；5—甘氨酸；6—组氨酸；7—苏氨酸；8—丙氨酸；9—精氨酸；10—脯氨酸；11—酪氨酸；12—缬氨酸；13—蛋氨酸；14、15—半胱氨酸；16—异亮氨酸；17—亮氨酸；18—苯丙氨酸；19—鸟氨酸；20—色氨酸；21—赖氨酸

色谱柱：国产 Hypersil ODS，15 cm×4.6 mm（内径）

流动相：A. 0.05 mol·L^{-1} NaAC（a）pH7.2，（b）pH6.4，（c）pH6.0，（d）pH5.6

B. 0.1 mol·L^{-1} NH_4AC（a）pH7.8，（b）pH6.4，（c）pH6.0，（d）pH5.6

线性洗脱 22 min 冲洗从 100%A 至 100%B，然后 100%B 冲洗 5 min，接着 2 min 后冲洗回到 100%A，最后用 A 洗脱 4 min

检测器：紫外

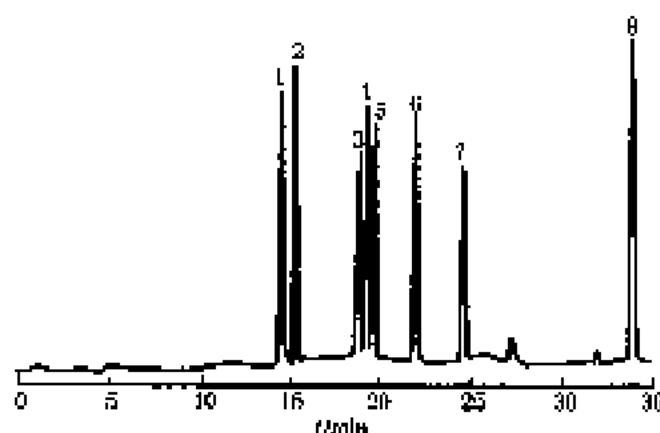


图 10-67 氨基酸（PITC 衍生化）分离谱图[40]

色谱峰：1—Asp；2—Glu；3—Ser；4—Gln；5—Gly；6—牛磺酸；7—GABA；8—正亮氨酸

色谱柱：填充 Rainin Dynamax C_{18} Microsorb 载体，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：4℃

流动相：溶剂 A 0.1 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH6.7）

　　　　溶剂 B 0.5 ml 三乙胺+0.7 ml 冰乙酸+5 ml 乙腈

梯度曲线：

时间/min	φ/%		时间/min	φ/%	
	A	B		A	B
0.0	100	0	32.0	55	45
2.0	85	15	37	55	45
8.0	85	15	37	0	100
12.0	75	25	42.0	0	100
20.0	75	25	43.0	100	0
24.0	75	25	60.0	100	0

流　速：0.6 ml·min^{-1}

检测器：可变波长检测器（λ=245 nm）

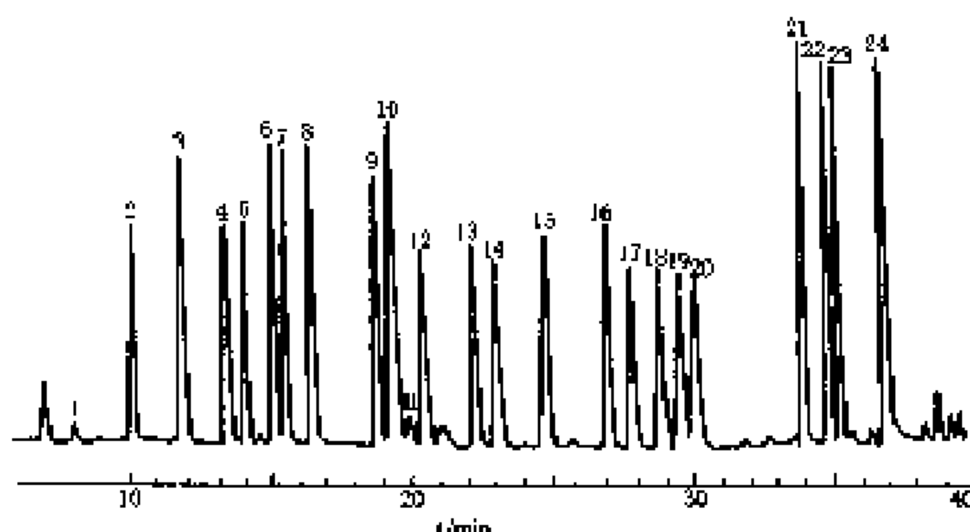


图 10-68 氨基酸标准物(FMOC 衍生化）谱图[44]

色谱峰：1—单衍生化 His；2—Arg；3—Asn-Gln；4—Ser；5—Asp；6—Glu；7—Thr；8—Gly；9—Ala；10—FMOC 醇；11—单衍生化 Tyr；12—Pro；13—丙烯甘氨酸（C-allylglycine)；14—Met；15—Val；16—Phe；17—Try；18—Ile；19—Leu；20—（Cys)$_2$；21—二衍生化 Tyr；22—Cys；23—Lys；24—二衍生化 tyr

色谱柱：填充 ODS-80TM 载体，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：溶剂 A 乙腈+15 mmol·L^{-1}柠檬酸+10 mmol·L^{-1}氯化四甲基铵（NaOH 调节 pH3.25）(27+73)

　　　　溶剂 B 乙腈+THF+15 mmol·L^{-1}柠檬酸+10 mmol·L^{-1}氯化四甲基铵（NaOH 调节至 pH5.3）（体积比=35:5:60)

　　　　C 乙腈+THF+15 mmol·L^{-1}柠檬酸+10 mmol·L^{-1}氯化四甲基铵(NaOH 调节 pH6.2)(体积比=62:13:25)

线性梯度洗脱：A:B:C 分别为 95%:0%:5% $\xrightarrow{4\ min}$ 85%:0%:15% $\xrightarrow{8\ min}$ 45%:50%:5% $\xrightarrow{17\ min}$ 0%:100%:0% $\xrightarrow{17\ min}$ 0%:90%:10% $\xrightarrow{26\ min}$ 0%:87%:13% $\xrightarrow{27\ min}$ 0%:38%:62% $\xrightarrow{32\ min}$ 0%:34%:66% $\xrightarrow{35\ min}$ 0%:0%:100%

流　速：1.4 ml·min^{-1}　　　　检测器：UV（264 nm）

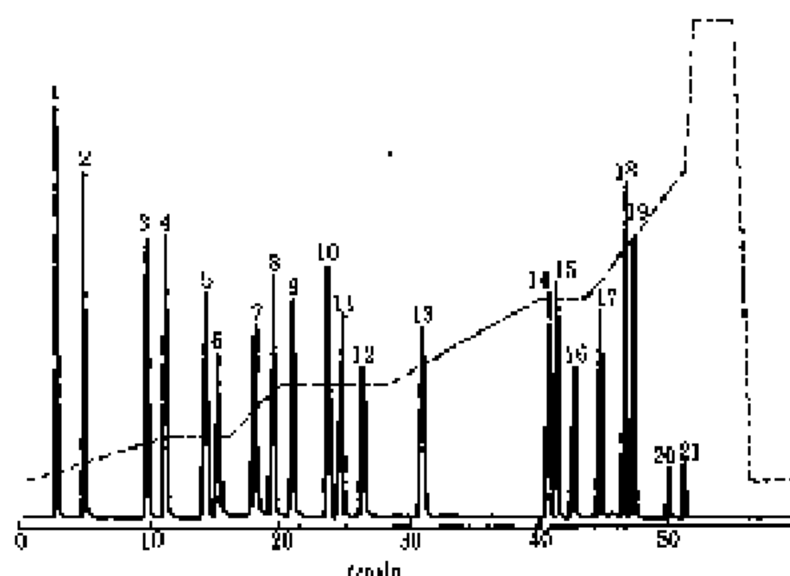


图 10-69　氨基酸标准衍生物谱图[46]

色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—ARG；10—TAU；11—ALU；12—GABA；13—TYR；14—MET；15—VAL；16—TMP；17—PHE；18—ILE；19—LEU；20—ORN；21—LYS

色谱柱：填充 Ultrasphere ODS 柱，75 mm×4.6 mm（内径），3 μm

衍生试剂：OPA

柱　温：21℃

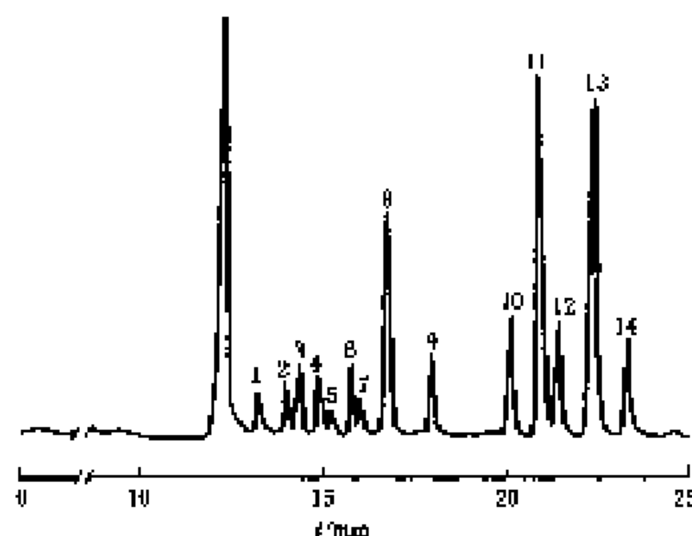
流动相：溶剂 A 0.1 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH7.2）

　　　　溶剂 B 甲醇+THF（体积比=97∶3）

线性梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{12\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 28%B $\xrightarrow{8\ min}$ 28%B $\xrightarrow{12\ min}$ 45%B $\xrightarrow{3.5\ min}$ 45%B $\xrightarrow{7.5\ min}$ 70%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{3\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 10%B $\xrightarrow{10\ min}$ 0%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=338 nm，λ_{em}=425 nm）



色谱峰：1—CYS；2—ASN；3—GLN；4—SER+ASP；5—GLU；6—ARG；7—THR；8—GLY；9—ALA；10—MET；11—PRO；12—VAL；13—PHE+TRP；14—LEU

色谱柱：填充 C_{18} Ultrasphere ODS 柱 250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：62℃

流动相：溶剂 A 0.04 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH4.25）

　　　　溶剂 B 乙腈

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0.0	20.0
0.1	70
38.0	75
40.0	结束

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=360 nm，λ_{em}=455 nm）

图 10-70　氨基酸标准混合物（DABSYL 衍生化）谱图[50]

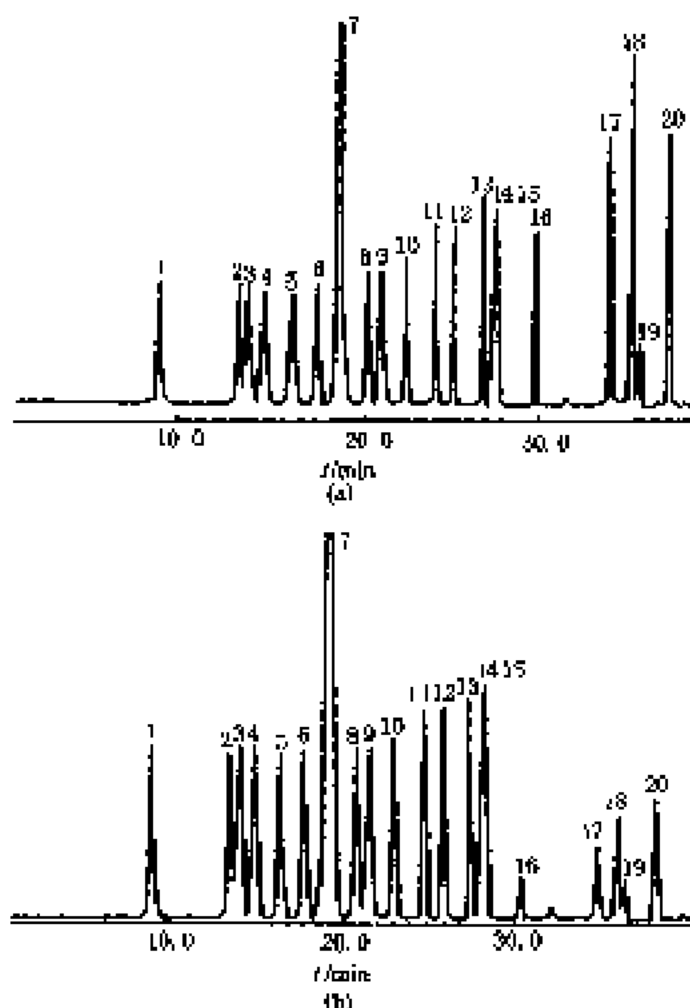


图 10-71　氨基酸标准溶液分离谱图[40]

色谱峰：1—Arg；2—Ser；3—Asp；4—Glu；5—Ser；6—Gly；7—9-芴基乙醇；8—Ala；9—Dns-NH$_2$；10—Pro；11—Met；12—Val；13—Phe；14—Ile；15—Leu；16—Cys；17—His；18—Lys；19—双-2-(9-芴基)乙基碳酸盐；20—Tyr

色谱柱：Varian Amino-Tag ODS，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：样品经2-(9-芴基)乙基-氯乙酸柱前处理

A. 醋酸钠(25 mmol·L^{-1})+氢氧化四甲铵，磷酸调至pH3

B. 醋酸钠(25 mmol·L^{-1})+氢氧化四甲铵，磷酸调至pH5.5

C. 乙腈+10%甲醇

梯度洗脱：

时间/min	φ/%		
	A	B	C
0	66	0	34
15	12	48	40
37	25	5	70
40	20	0	80

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV(254 nm)；

(b) 荧光检测器(λ_{ex}=256 nm，λ_{em}=480 nm)

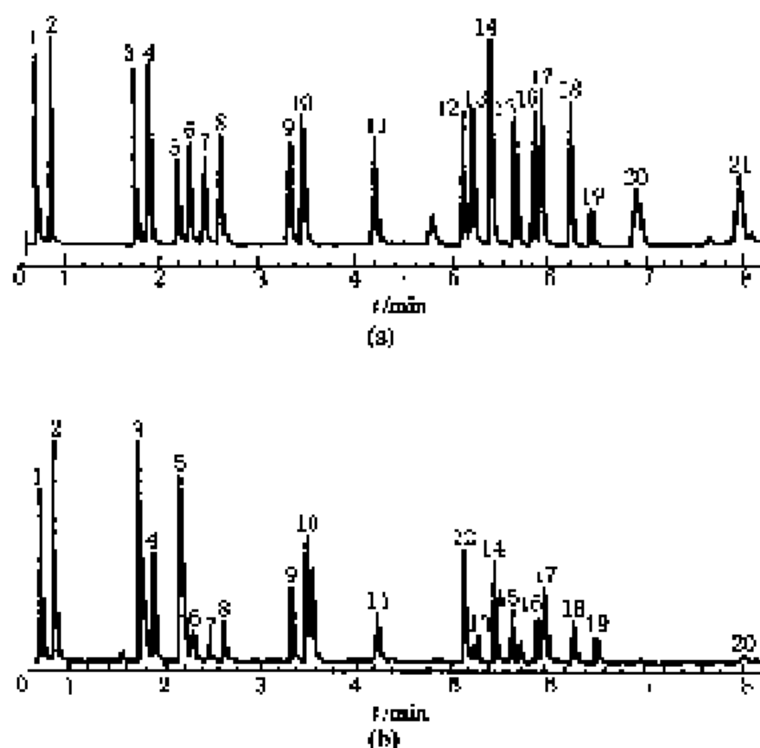


图 10-72　氨基酸高速分析谱图[illegible]

(a) 标准氨基酸混合物；

(b) 马铃薯片萃取液（含内标物）

色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—ALA；10—ARG；11—TYR；12—VAL；13—MET；14—NVAL；15—TRP；16—PHE；17—ILE；18—LEU；19—LYS；20—HO-PRO；21—PRO

色谱柱：Hypersil ODS，100 mm×4.0 mm（内径），5 μm

柱　温：40℃

流动相：溶剂 A 0.018 mol·L^{-1} NaOAc+φ=0.02% TEA+φ=0.3% THF

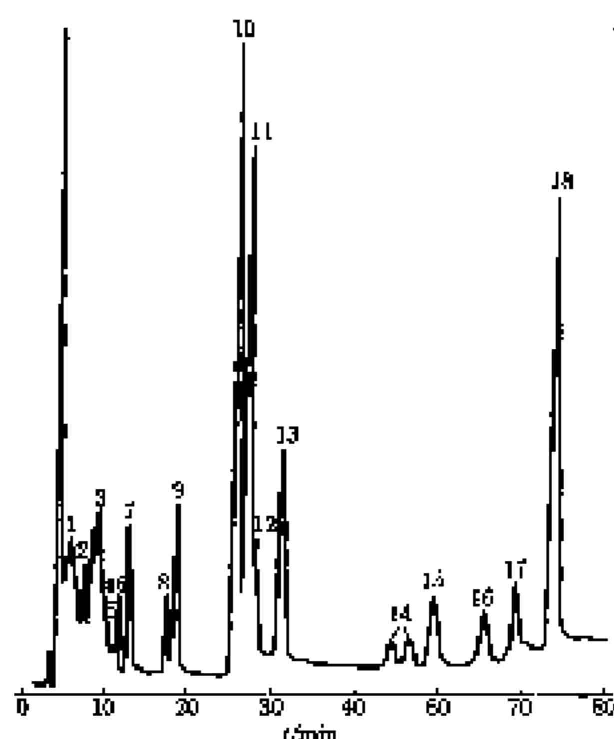
溶剂 B MeCN+MeOH+0.1 mol·L^{-1} NaOAc（pH7.2）（体积比=2∶2∶1）

线性梯度冲洗

时间/min	φ/% A	φ/% B	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm
0	100	0	340	450
0.5	94	6		
3.0	80	20		
6.5	50	50		
6.6			264	313
8.0	25	75		
8.5	0	100		
12.5	0	100		
13.5	100	0	340	450

流　速：1.4 ml·min^{-1}

检测器：荧光



色谱峰：1—Asp；2—Asn；3—His；4—Gly；5—Gln；6—Glu；7—Arg；8—Ala；9—氨基异丁酸；10—氨基丁酸；11—Lys；12—Tyr；13—Val；14—Met；15—Ile；16—正亮氨酸；17—Leu；18—Trp

色谱柱：μBondapak C 18

柱　温：27℃

流动相：溶剂 A 0.1 mol·L⁻¹乙酸（pH4.5）+0.03 mol·L⁻¹ KNO_3+0.5%乙腈

溶剂 B 0.1 mol·L⁻¹乙酸（pH4.5）+0.03 mol·L⁻¹ KNO_3+45%乙腈

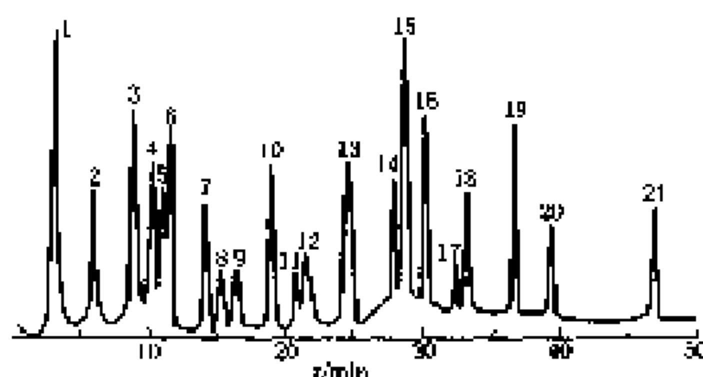
梯度洗脱：

t/min	φ/%	
	A	B
0	95	5
5	70	30
15	65	35
20	60	40
50	50	50
60	45	55

流　速：0.9 ml·min⁻¹

检测器：Au，1.2V（vs SCE）

图 10-73　MTH 氨基酸梯度淋洗分离谱图[24]



色谱峰：

1—Arg(27)；2—Lys(86)；3—Gln(26)；4—Asn(19)；5—Thr(10)；6—Ala(70)；7—Gly(83)；8—Ala(70)；9—Val(59)；10—Pro(33)；11—Ile(45)；12—Leu(48)；13—Met(25)；14—系统峰；15—His(16)；16—Phe(23)；17—Glu(43)；18—Asp(47)；19—Cys+Cyss(21)；20—Tyr(21)；21—Trp(18)

图 10-74　亚氨基酸分离谱图[48]

色谱柱：AminoPac PA1 pellicular 阴离子交换树脂，250 mm×4.0 mm（内径）

保护柱：AminoPac PA1，25 mm×3 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：A．33 mmol·L⁻¹ NaOH+7 mmol·L⁻¹硼酸钠；B．80 mmol·L⁻¹ NaOH+23 mmol·L⁻¹硼酸钠；C．0.65mol·L⁻¹乙酸钠；D．1 mol·L⁻¹ NaOH/0.3 mol·L⁻¹硼酸

梯度冲洗：

时间/min	φ/%			
	A	B	C	D
0.0~10	100	0	0	0
10~16.5	100→0	100→0	0	0
16.5~20	0	100	0	0
20—32	0	100→0	100→0	0
32—50	0	0	100	0
50—60	0	0	0	100
60—70	100	0	0	0

流　速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：PHAC-PAD

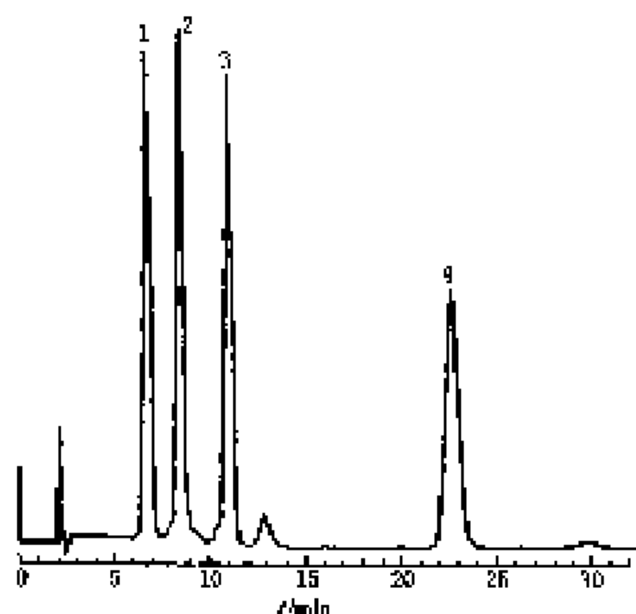


图 10-75 微胱氨酸的分离谱图[illegible]

色谱峰：1—RR；2—YR；3—LR；4—LA

色谱柱：Nucleosil C_{18}，150 mm×4.6 mm(内径)，5 μm

流动相：甲醇+0.05 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液(pH3)（体积比=6∶4）

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV(238 nm)



图 10-76 酪氨酸和甲状腺原氨酸的 FMOC 衍生物标准混合物谱图[illegible]

色谱峰：1—MIT；2—TO；3—DIT；4—T2；5—T3；6—r-T3；7—T4

色谱柱：Chromspher C_{18}，100 mm×3 mm(内径)，5 μm

流动相：线性梯度 0 min 0.05 mol·L^{-1}乙酸钠(pH=6.3)+甲醇(体积比=60∶40)
40 min 0.05 mol·L^{-1}乙酸钠(pH=4.2)+甲醇+乙腈(体积比=20∶60∶20)

检测器：(a) 荧光；(b) 紫外可见

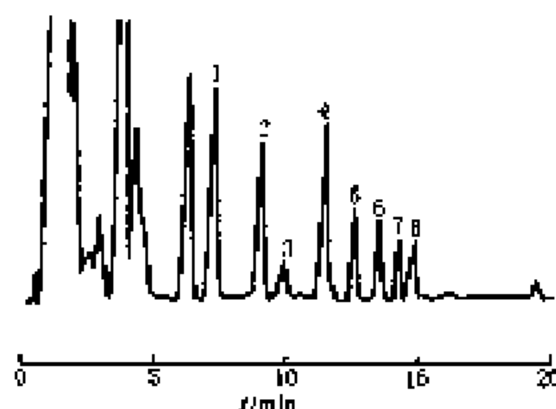


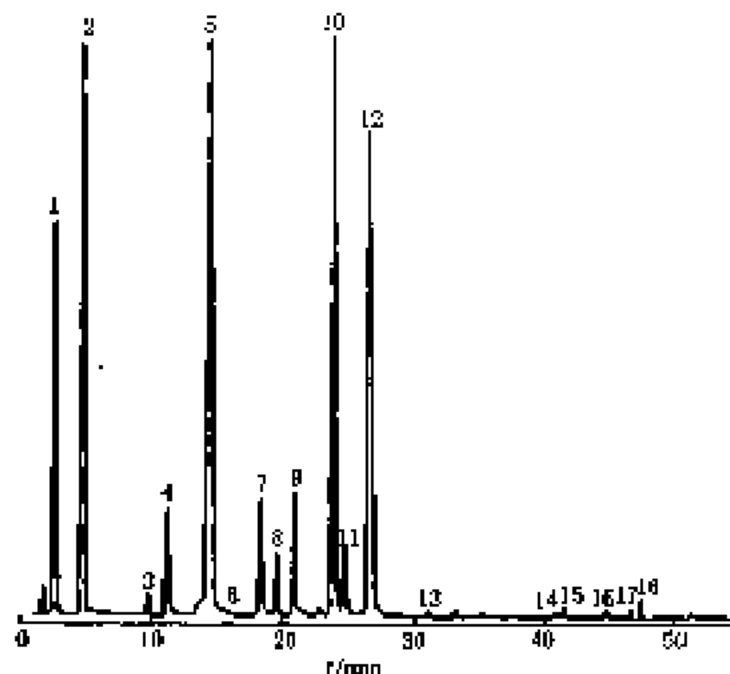
图 10-77 酪氨酸和甲状腺原氨酸的丹磺酰衍生物标准混合物谱图[illegible]

色谱峰：1—TYR；2—MIT；3—DIT；4—T0；5—T2；6—T3；7—T4；8—r-T3

色谱柱：Chromspher C_{18}，100 mm×3 mm（内径），5 μm

流动相：采用线性梯度 0 min 0.025 mol·L^{-1}乙酸钠（pH=6.5）+甲醇（体积比=30∶70）
15 min 0.025 mol·L^{-1}乙酸钠（pH=5.5）+甲醇（体积比=10∶90）

检测器：UV（458 nm）



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—ARG；10—TAU；11—ALA；12—GABA；13—TYR；14—MET；15—VAL；16—PHE；17—ILE；18—LEU

色谱柱：填充Ultrasphere ODS载体，75 mm×4.5 mm（内径），3 μm

柱前衍生：OPA

柱 温：21℃

流动相：溶剂A 0.1 mol·L^{-1} NaAc缓冲液（pH7.2）

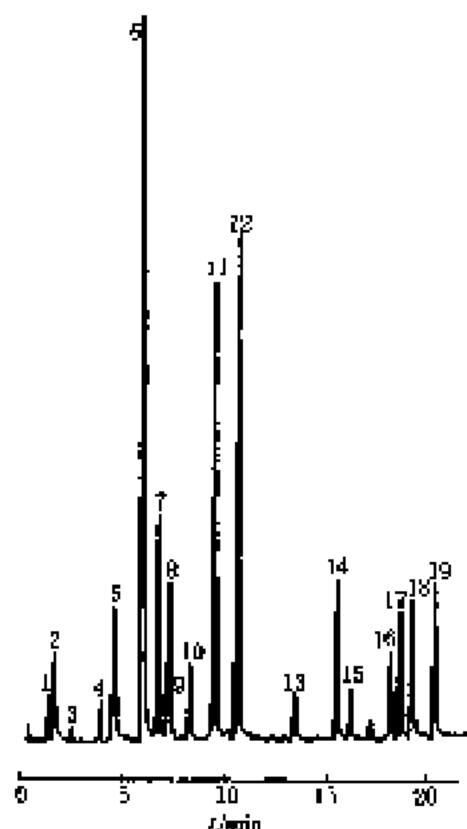
溶剂B 甲醇—THF（体积比=97∶3）

线形梯度洗脱：0%B $\xrightarrow{12\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 28%B $\xrightarrow{8\ min}$ 28%B $\xrightarrow{12\ min}$ 45%B $\xrightarrow{1.5\ min}$ 45%B $\xrightarrow{7.5\ min}$ 70%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{3\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 0%B $\xrightarrow{14\ min}$ 0%B

流 速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=330 nm，λ_{em}=425 nm）

图 10-78 鼠大脑中的氨基酸的分离谱图[45]



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ADA；4—ASN；5—SER；6—GLN；7—GLY；8—THR；9—HIS；10—CIT；11—ALA；12—ARG；13—TYR；14—VAL；15—MET；16—ILE；17—PHE；18—LEU；19—LYS

色谱柱：填充3 μm Spherisorb ODS Ⅱ，200 mm×1.6 mm（内径）

柱 温：室温

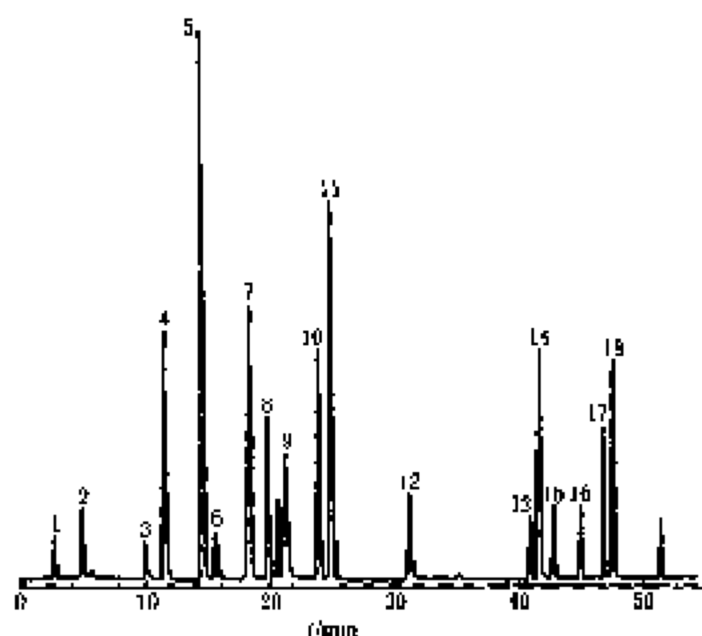
流动相：同图10-78

梯度洗脱：0%B $\xrightarrow{20\ min}$ 100%B

流 速：200 ml·min^{-1}

检测器：Merck F-1000（λ_{ex}=330 nm，λ_{em}=450 nm）

图 10-79 氨基酸（OPA/3-MPA 衍生化）谱图[20]



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—ARG；10—TAU；11—ALA；12—TYR；13—MET；14—VAL；15—TRP；16—PHE；17—ILE；18—LEU

色谱柱：填充 Ultrasphere ODS 载体 75 mm×4.6 mm（内径），3 μm

预处理柱：OPA

柱　温：21℃

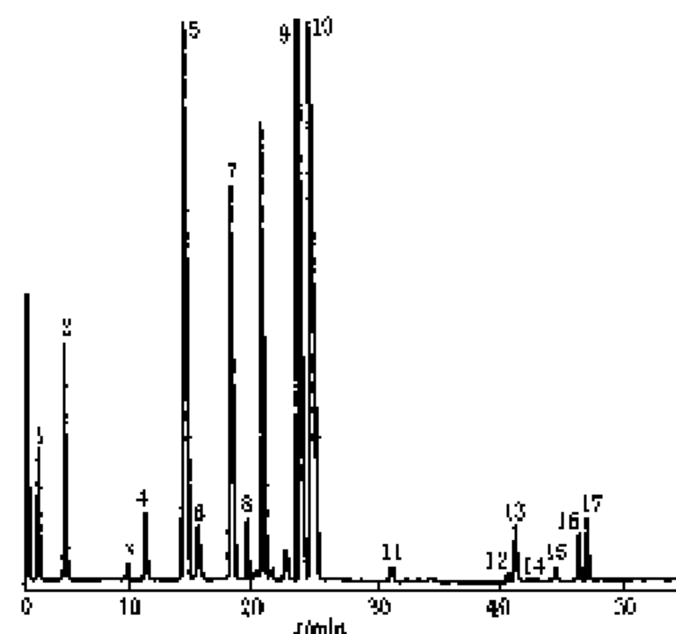
流动相：溶剂 A　0.1 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH7.2）

　　　　溶剂 B　甲醇+THF（体积比=97∶3）

图 10-80　鼠血浆中的氨基酸的分离谱图[48]

线形梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{12\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 18%B $\xrightarrow{1\ min}$ 28%B $\xrightarrow{6\ min}$ 28%B $\xrightarrow{12\ min}$ 45%B $\xrightarrow{6.5\ min}$ 45%B $\xrightarrow{7.5\ min}$ 70%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{3\ min}$ 10%B $\xrightarrow{10\ min}$ 10%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}　　　　检测器：荧光（λ_{ex}=338 nm，λ_{em}=425 nm）



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—TAU；10—ALA；11—TYR；12—MET；13—VAL；14—TRP；15—PHE；16—ILE；17—LEU

色谱柱：填充 Ultrasphere ODS 载体，75 mm×4.6 mm（内径），3 μm

预处理柱：OPA

柱　温：21℃

流动相：溶剂 A 0.1 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH7.2）

　　　　溶剂 B 甲醇+THF（体积比=97∶3）

线形梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{18\ min}$ 18%B $\xrightarrow{4\ min}$ 18%B $\xrightarrow{1\ min}$ 28%B $\xrightarrow{8\ min}$ 28%B $\xrightarrow{12\ min}$ 45%B $\xrightarrow{9.5\ min}$ 45%B $\xrightarrow{7.5\ min}$ 70%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{3\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 10%B $\xrightarrow{10\ min}$ 10%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=338 nm，λ_{em}=425 nm）

图 10-81　鼠肝脏中的氨基酸的分离谱图[49]

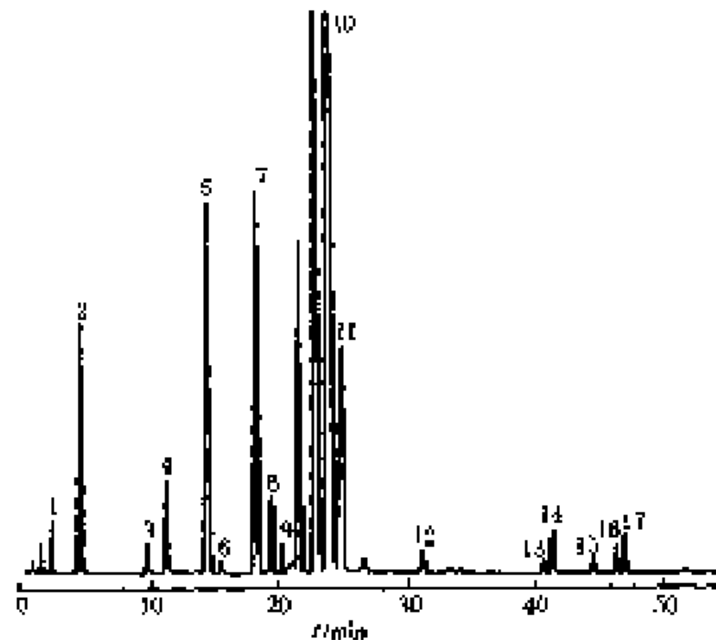


图 10-82 鼠肠胃中的氨基酸的分离谱图[45]

色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—GLN；6—HIS；7—GLY；8—THR；9—ARG；10—TAU；11—ALA；12—TYR；13—MET；14—VAL；15—PHE；16—ILE；17—LEU

色谱柱：填充 Ultrasphere ODS 载体，75 mm×4.6 mm（内径），3 μm

预处理柱：OPA

柱 温：21°C

流动相：溶剂A 0.1 mol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH7.2）

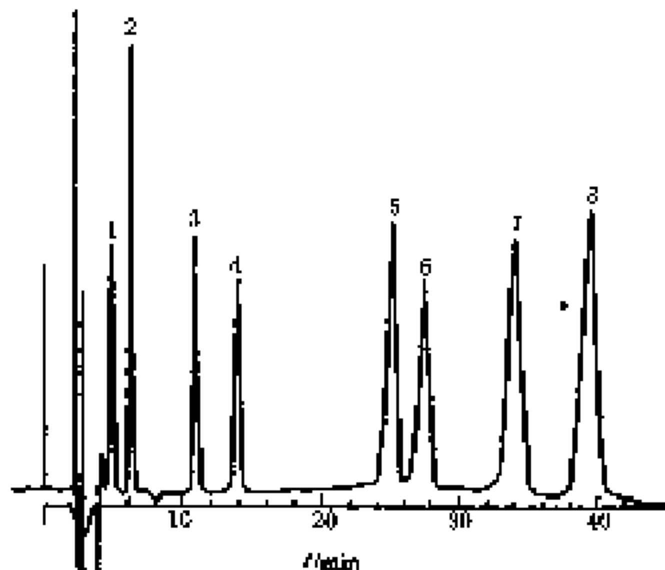
溶剂B 甲醇+THF（体积比=97∶3）

线性梯度冲洗 0% B $\xrightarrow{12\ min}$ 16%B $\xrightarrow{4\ min}$ 16%B $\xrightarrow{4\ min}$ 28%B $\xrightarrow{8\ min}$ 28%B $\xrightarrow{12\ min}$ 45%B $\xrightarrow{3.5\ min}$ 45%B $\xrightarrow{7.5\ min}$ 70%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 100%B $\xrightarrow{1\ min}$ 10%B $\xrightarrow{10\ min}$ 10%B

流 速：1.5 mL·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=338 nm，λ_{em}=425 nm）

第三节 生化医药类样品色谱图



色谱峰：1—3，4-二羟基苯丙氨酸；2—去甲肾上腺素；3—肾上腺素；4—3，4-二羟基苄胺；5—多巴胺；6—3，4-二羟基苯基丙酸；7—N-甲基多巴胺；8—3，4-二羟基苯乙酸

色谱柱：Nucleosil 5-C_{18}，250 mm×4.6 mm×5 mm

流动相：60 mmol·L^{-1}甲基磺酸+30 mmol·L^{-1}磷酸+0.15 mmol·L^{-1}辛基磺酸钠+0.1 mmol·L^{-1}EDTA

检测器：电化学检测

图 10-83 8种不同儿茶酚衍生物的分离谱图[50]



图 10-84　典型血清样品分离谱图[249]

色谱峰：1—维生素 A；2—β-维生素 E；3—α-维生素 E；4—α-乙酸生育酚；5—叶黄素和玉米黄质；6—隐黄质；7—β-胡萝卜素-4-酮；8—番茄红素；9—α-胡萝卜素；10—β-胡萝卜素

色谱柱：填充 Nova-Pak C_{18}载体，250 mm×3.9 mm

保护柱：Nova-pak 型

流动相：乙腈＋二氯甲烷＋甲醇（体积比＝7：2：1）

检测器：UV，(a) λ＝280 nm；(b) λ＝436 nm

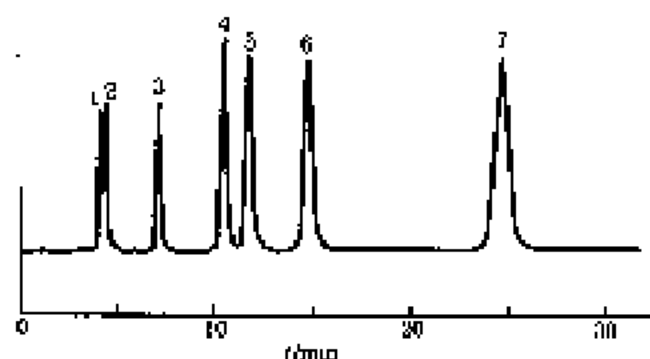


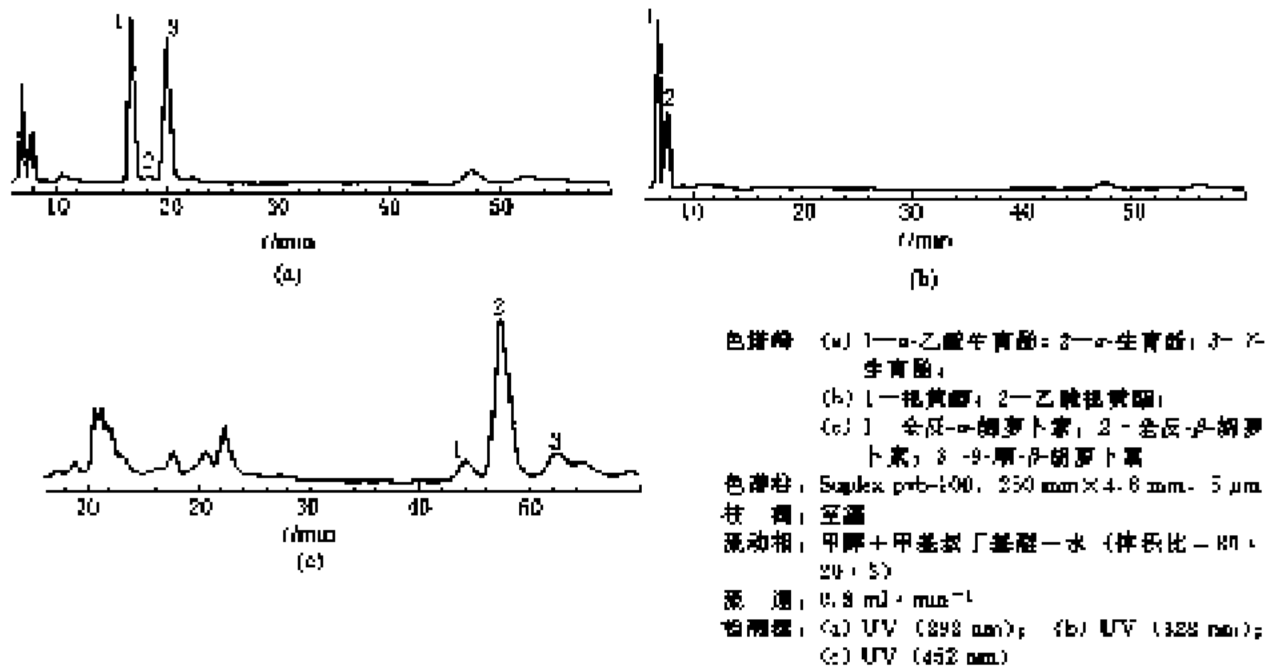
图 10-85　维生素 B_6 和其代谢物分离谱图[250]

色谱峰：1—磷酸吡哆醛（8 ng）；2—吡哆醛（1.6 ng）；3—磷酸吡哆胺（0.8 ng）；4—吡哆酸（1.6 ng）；5—吡哆醇（4.2 ng）；6—4-脱氧吡哆素（16 ng）；7—吡哆胺（3.2 ng）

色谱柱：填充 microle 250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

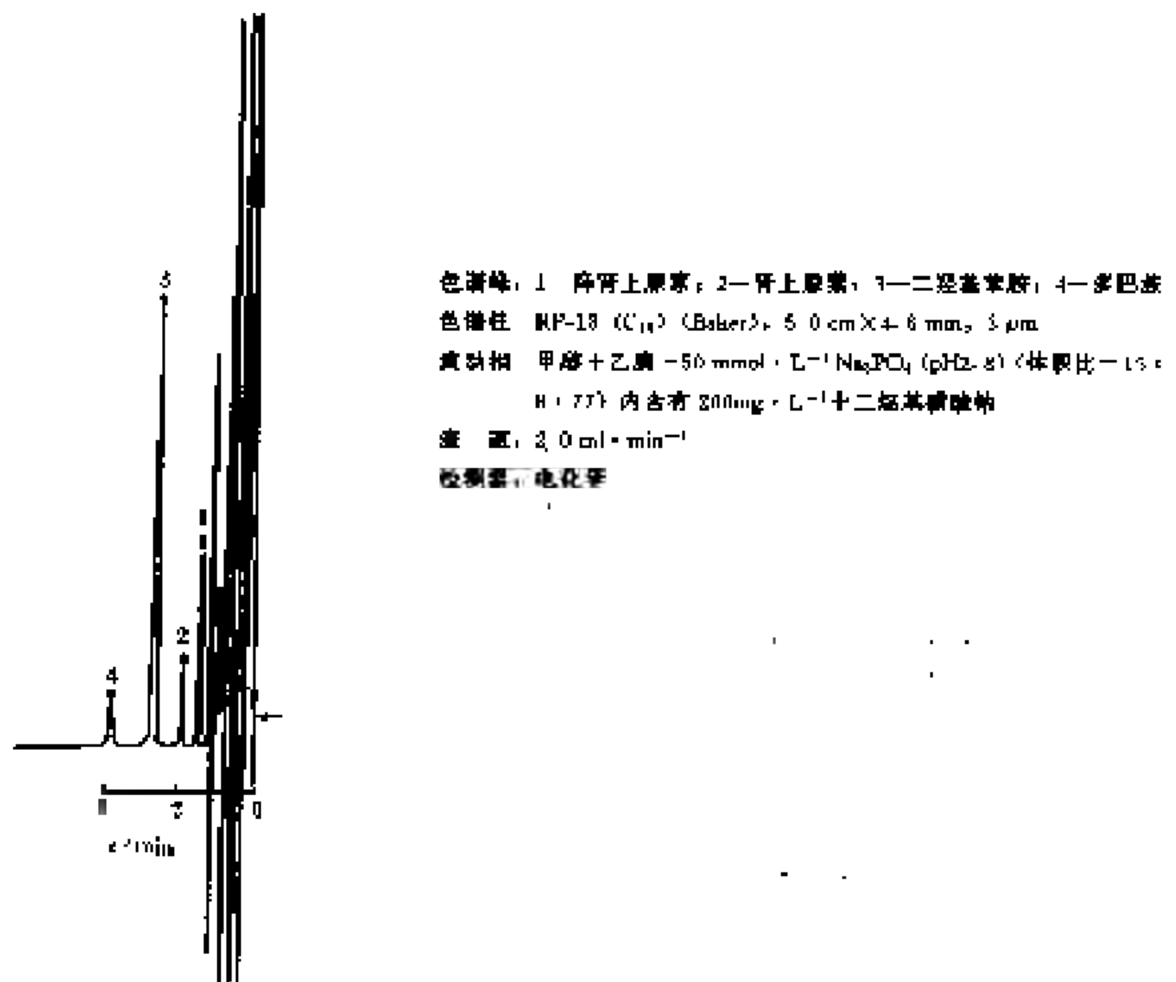
流动相：0.015 mol·L^{-1}柠檬酸＋0.00185 mol·L^{-1}正辛烷基磺酸

检测器：$λ_{ex}$＝300 nm，$λ_{em}$＝375 nm



色谱峰：(a) 1—α-乙酸生育酚；2—α-生育酚；3—γ-生育酚；
(b) 1—视黄醇；2—乙酸视黄酯；
(c) 1—全反-α-胡萝卜素；2—全反-β-胡萝卜素；3—9-顺-β-胡萝卜素
色谱柱：Suplex pkb-100，250 mm×4.6 mm，5 μm
柱　温：室温
流动相：甲醇+甲基叔丁基醚—水（体积比=80：20：5）
流　速：0.8 ml·min^{-1}
检测器：(a) UV (292 nm)；(b) UV (325 nm)；(c) UV (452 nm)

图 10-86　人血浆萃取物分离谱图[34]



色谱峰：1—降肾上腺素；2—肾上腺素；3—二羟基苄胺；4—多巴胺
色谱柱：RP-18 (C_{18}) (Baker)，5.0 cm×4.6 mm，3 μm
流动相：甲醇+乙腈−50 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4 (pH2.8)（体积比=15：8：77）内含有200mg·L^{-1}十二烷基硫酸钠
流　速：2.0 ml·min^{-1}
检测器：电化学

图 10-87　人血浆儿茶酚胺及其代谢物的分离谱图[35]



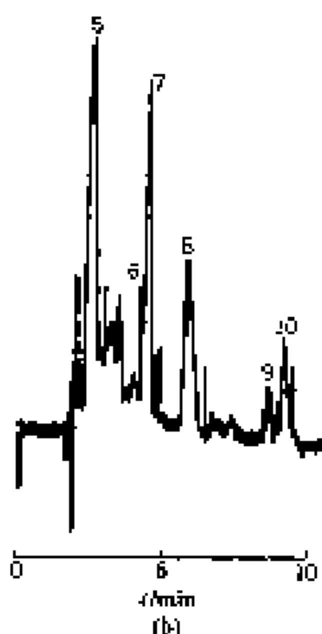


图 10-88　人血清萃取物分离谱图[illegible]

色谱峰：1—视黄醇（313 nm）；2—视黄基乙酸盐（313 nm）；3—α-生育酚（280 nm）；4—生育酚基乙酸盐（280 nm）紫外检测波长为（450 nm）；5—叶黄素＋玉米黄质；6—顺-β-隐黄质；7—β-隐黄质；8—番茄红素；9—α-胡萝卜素；10—β-胡萝卜素

色谱柱：填充 Spheri-5-RP-18，220 mm×4.6 mm（内径），5 μm

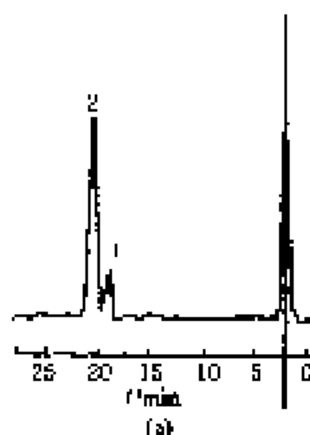
保护柱：填充 ODS RP-18 15 mm×3.2 mm

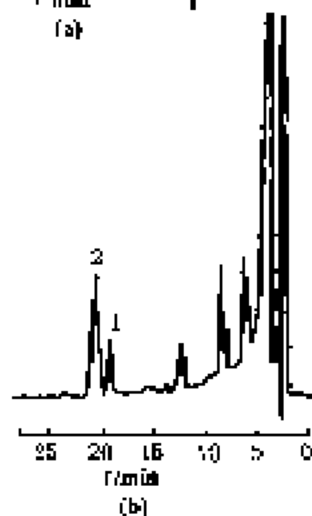
流动相：乙腈＋二氯甲烷＋甲醇（体积比＝70：20：10）

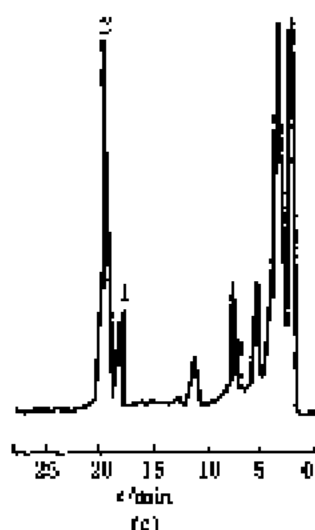
流　速：1.8 ml·min⁻¹

进样体积：（5～10）μl

检测器：（a）UV-Vis（313 nm，280 nm）；（b）UV-Vis（450 nm）







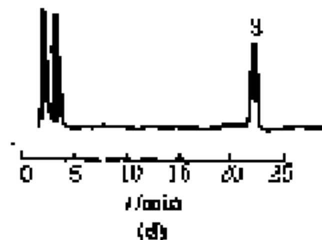


图 10-89　人血清中 α-，β-类胡萝卜素分离谱图[illegible]

（a）用 α-，β-类胡萝卜素＋内标物视黄基软脂酸盐；

（b）空白血清和内标物；

（c）血清＋纯 α-，β-类胡萝卜素＋内标物

色谱峰：1—β-类胡萝卜素；2—α-类胡萝卜素；3—视黄基软脂酸盐

色谱柱：填充 C18，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈＋二氯甲烷＋甲醇（75＋15＋10 体积分数）

流　速：1.0 ml·min⁻¹（14 min）→1.4 ml·min⁻¹（10 min）

检测器：UV（325 nm）

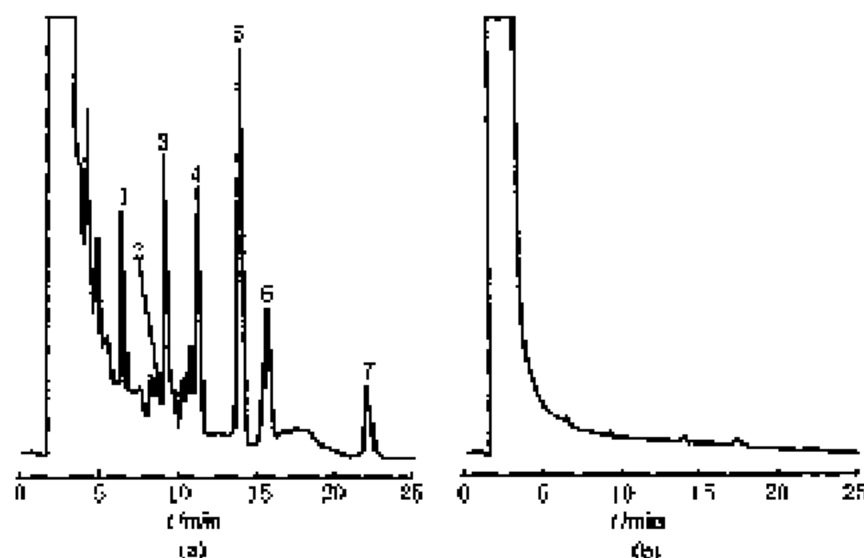


图 10-90 人血清中脂肪酸分离谱图[34]

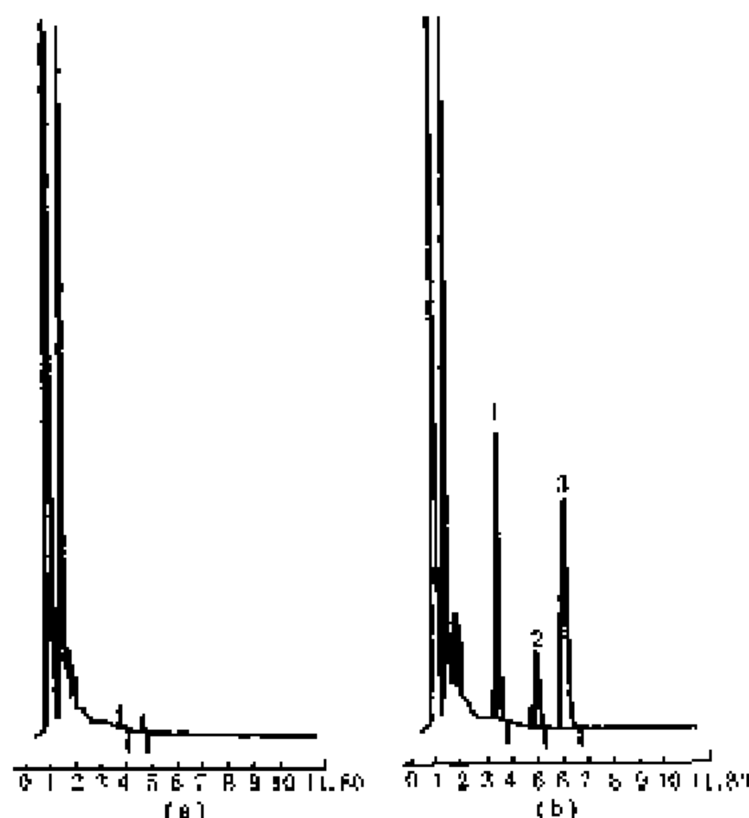
(a) 试样；(b) 空白试剂

色谱峰：1—月桂酸；2—亚麻酸；3—肉豆蔻酸；4—亚油酸；5—棕榈酸；6—油酸；7—硬脂酸

色谱柱：C_8，150 mm×3.9 mm

柱　温：室温　　　　流　速：0.5 mL·min^{-1}

流动相：10 mmol·L^{-1}磷酸+乙腈（体积比=20:80）　　　　检测器：UV



(a) 无药物尿样品；(b) 掺入药物尿样品

色谱峰：1—4-羟基-异喹胍 (2.0 mg·L^{-1})；2—胍苯克生 (0.4 mg·L^{-1})；3—异喹胍 (2.0 mg·L^{-1})

色谱柱：填充 adsorbosphere nitrile，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+8 mmol·L^{-1} KH_2PO_4 (pH4.8)（体积比=30:70），等度梯度洗脱

流　速：1.5 mL·min^{-1}

柱　温：室温

进样器：HPLC 420

检测器：UV (208 nm)

图 10-91 人尿提取物分离谱图[35]

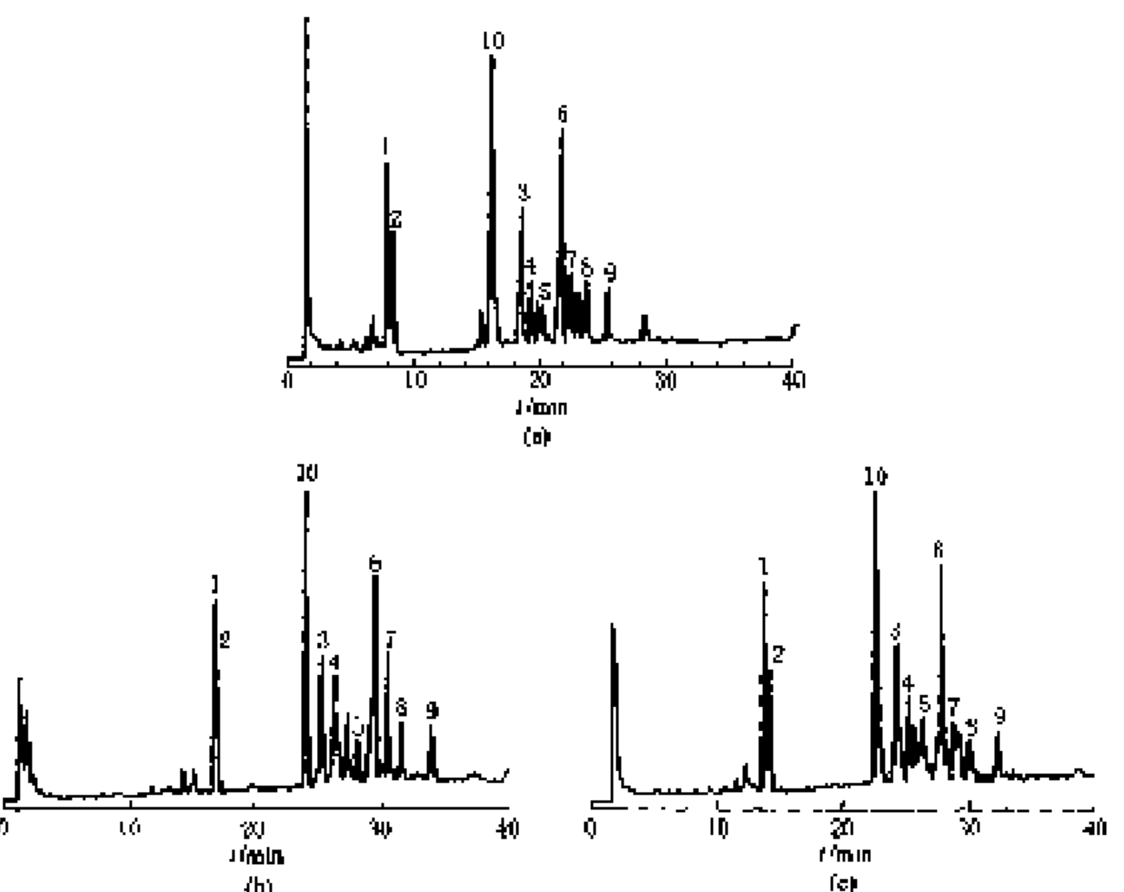


图 10-92　人参提取液在不同色谱柱上的谱图[10]

色谱峰：1—人参皂苷-Rg_1；2—人参皂苷-Re；3—丙二酰人参皂苷-Rb_1；4—丙二酰人参皂苷-Rc；5—丙二酰人参皂苷-Rb_2；6—人参皂苷-Rb_1；7—人参皂苷-Rc；8—人参皂苷-Rb_2；9—人参皂苷-Rd；10—人参皂苷-Ro

色谱柱：(a) MPG-ODS (8 nm)；(b) 硅-ODS (8 nm)；(c) 硅-ODS (30 nm)

流动相：乙腈＋50 $mmol \cdot L^{-1}$ KH_2PO_4 (体积比＝15：85) → (50：50)

流　速：1.0 $mL \cdot min^{-1}$

检测器：UV (203 nm)

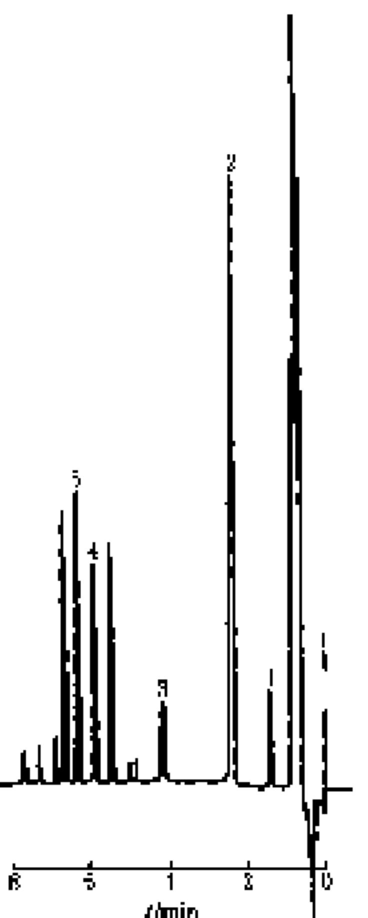


图 10-93　儿茶酚胺尿代谢物的分离谱图[37]

色谱峰：1—香草扁桃酸；2—3-羟基-4-甲氧基扁桃酸；3—3,4-二羟基苯乙酸；4—5-羟基吲哚乙酸；5—高香草酸

色谱柱：RP-18 (C_{18}) (Baker)，5.0 cm×4.6 mm (内径)，3 μm

流动相：A　50 $mmol \cdot L^{-1}$ NaH_2PO_4 (pH2.8)

B　乙腈＋50 $mmol \cdot L^{-1}$ NaH_2PO_4，pH7.6 (体积比＝1：3)

梯度冲洗：2% B $\xrightarrow{0.1\ min}$ 10%B $\xrightarrow{0.9\ min}$ 30%B $\xrightarrow{2.0\ min}$ 60%B $\xrightarrow{2.0\ min}$ 80%B $\xrightarrow{0.5\ min}$ 100%B $\xrightarrow{0.5\ min}$ 100%B

流　速：2.0 $mL \cdot min^{-1}$　　检测器：电化学

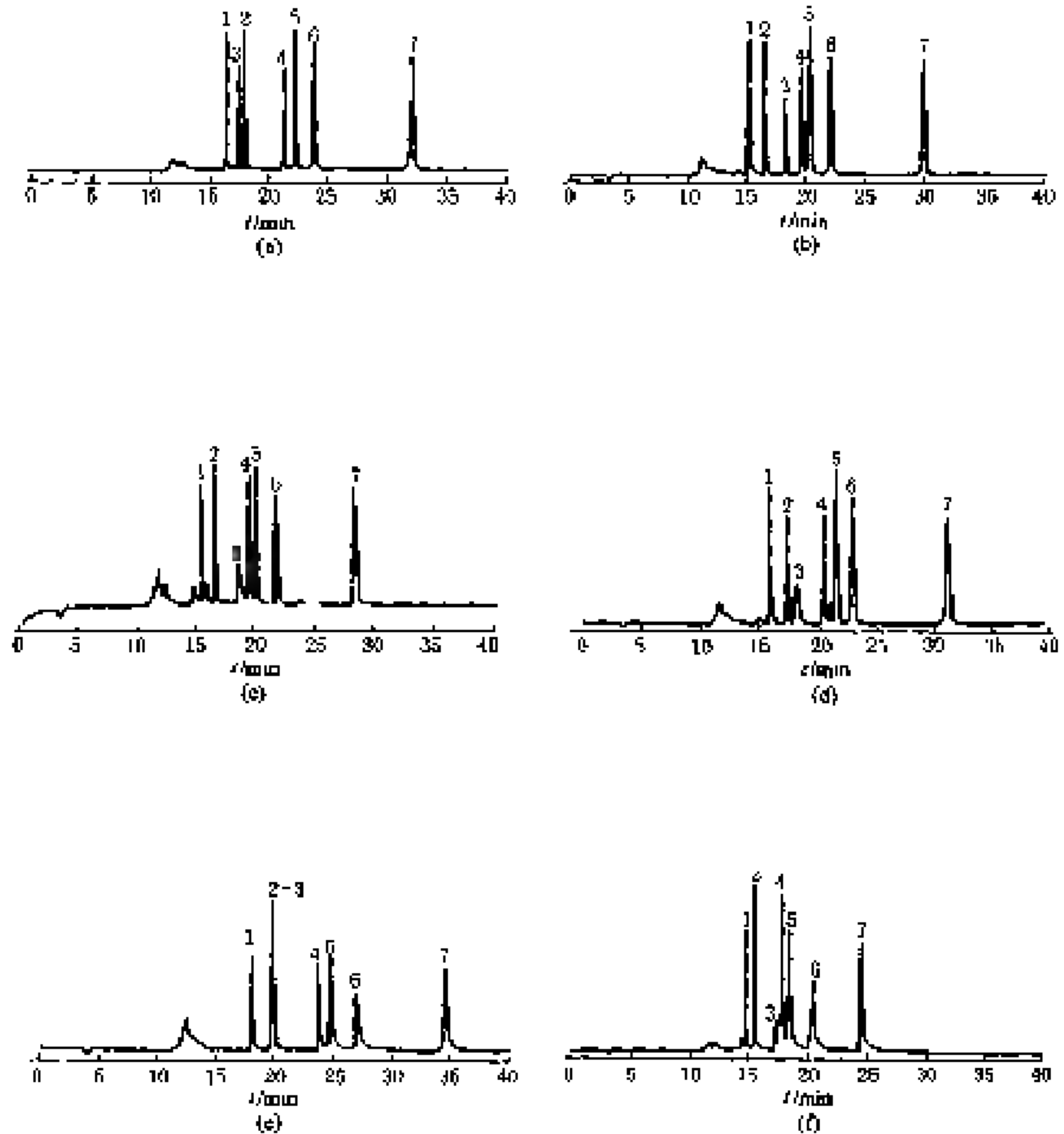


图 10-94　儿茶素和咖啡因分离谱图（一）

色谱峰：1—没儿茶素，2—儿茶素，3—咖啡因，4—表儿茶素，5—表儿茶素酯，6—表儿茶酸，7—表儿茶素酸酯

色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径）

(a) Zorbax Eclipse XDB C_{18}，5μm；(b) Zorbax Rx-C_{18}，5 μm；(c) PAH Hypercarb，5 μm；(d) SMT OD-5-100，5 μm；(e) Phenomenex Ultracarb 5 ODS，5 μm；(f) Zorbax ODS-C_{18}，5 μm

流动相：A. 水+0.05%TFA

B. 乙腈+0.05%TFA

梯度冲洗：

时间/min	0	25	30	35
φ(B)/%	12	21	25	100

流　速：1 ml・min^{-1}

检测器：UV(210 nm)

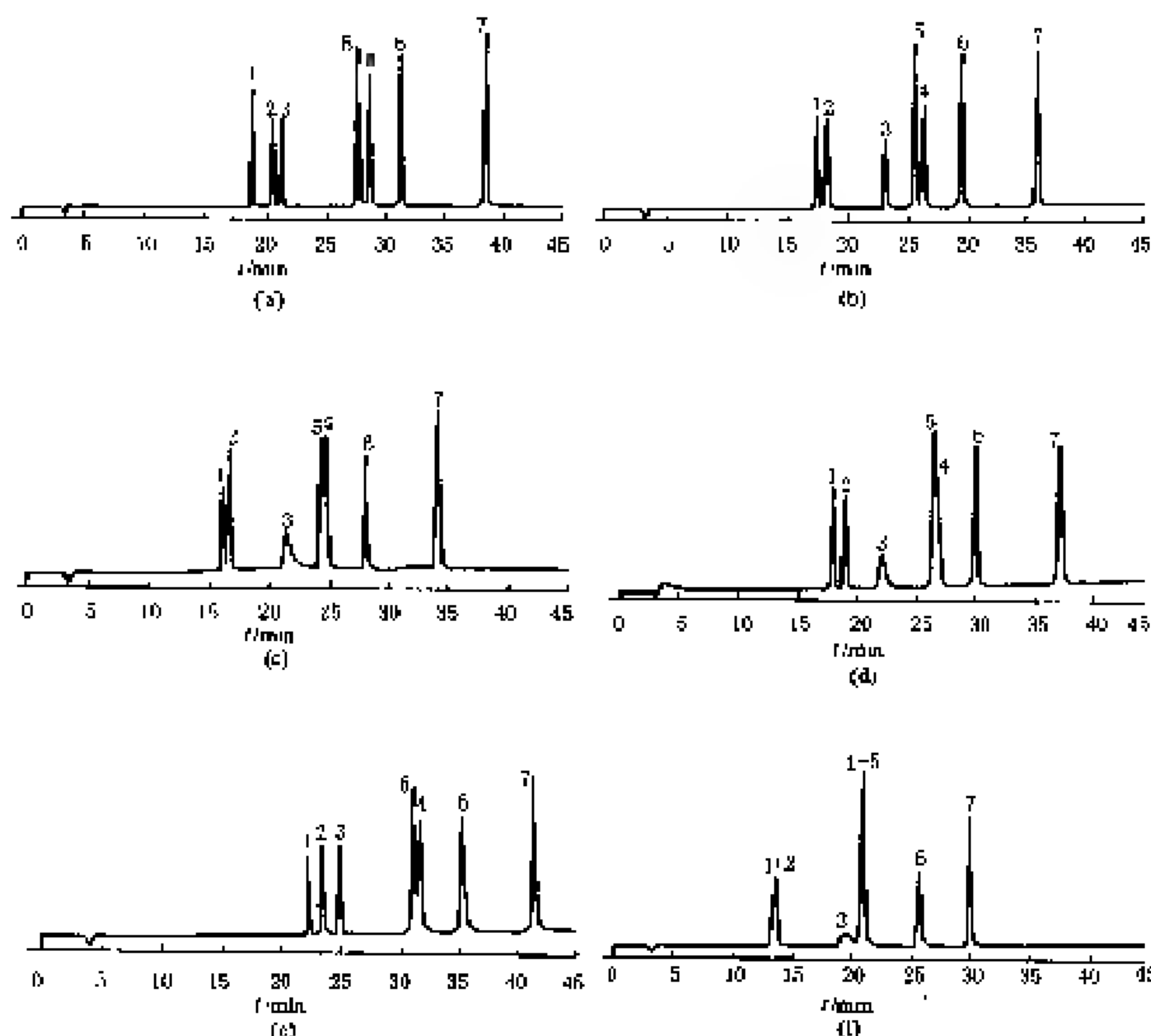


图 10-95　儿茶素和咖啡因分离谱图（二）

色谱峰：1—表儿茶素；2—儿茶素；3—咖啡因；4—表儿茶素；5—表儿茶素酸；6—没儿茶酸；7—表儿茶素酸

色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径）

(a) Zorbax Eclipse XDB C_{18}，5 μm；(b) Zorbax Rx-C_{18}，5 μm；(c) PAH Hypersil，5 μm；(d) SMT OD 5 100，5 μm；(e) Phenomenex Ultracarb 3ODS，5 μm；(f) Zorbax ODS-C_{18}，5 μm

流动相：A. 水+0.05%TFA

B. MeOH-乙腈+0.05TFA（体积比=60∶40）

梯度洗脱

时间/min	0	5	50
φ(B)/%	10	15	40

检测器：UV(210 nm)



色谱峰：1—苯巴比妥；2—丁巴比妥；3—己巴比妥；4—苯妥英；5—丙巴比妥

色谱柱：Chrom-Spher C_{18}（Chrompack）键合十八烷基硅，20.0 cm×3.0 mm（内径），5 μm

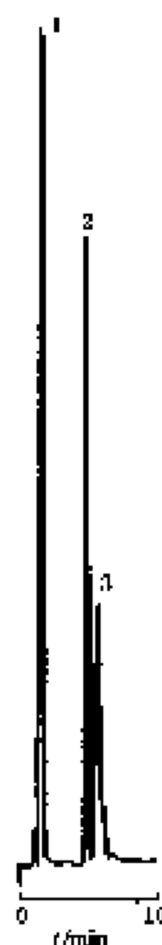
流动相：乙腈＋水（体积比＝30∶70）（用磷酸调至pH2.66）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV(254 nm) 0.04AUFS

图 10-96　巴比妥酸盐谱图



色谱峰：1—4-乙酰氨基酚；2—乙酰水杨酸；3—水杨酸

色谱柱：Chrom-Spher C_{18}（Chrompack）键合十八烷基硅，20.0 cm×3 mm（内径），5 μm

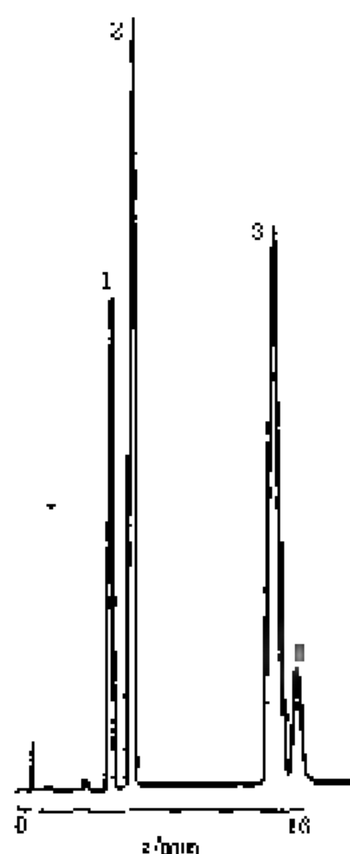
流动相：水＋乙醇＋乙腈

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV(238 nm)

图 10-97　止痛药的分离谱图（一）



色谱峰：1—萘普生；2—芬布芬；3—吲哚美辛；4—布洛芬

色谱柱：ChromSpher C_{18} (Chrompack) 键合十八烷基硅，20.0 cm×3 mm（内径），5 μm

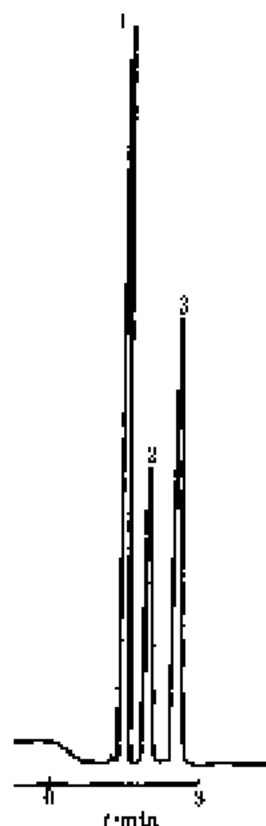
流动相：水—乙腈+乙酸（体积比=62∶37∶1）

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV(254 nm) 0.1AUFS

图 10-98　止痛药的分离谱图（二）[44]



色谱峰：1—乙酰水杨酸；2—咖啡因；3—苯巴比妥

色谱柱：Chromspher C_{18}(Chrompack) 键合十八烷基硅，20.0 cm×3.0 mm（内径），5 μm

流动相：0.01 mol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$ (pH3.0)+乙腈（体积比=85∶15）

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV(215 nm)

图 10-99　止痛药的分离谱图（三）[44]

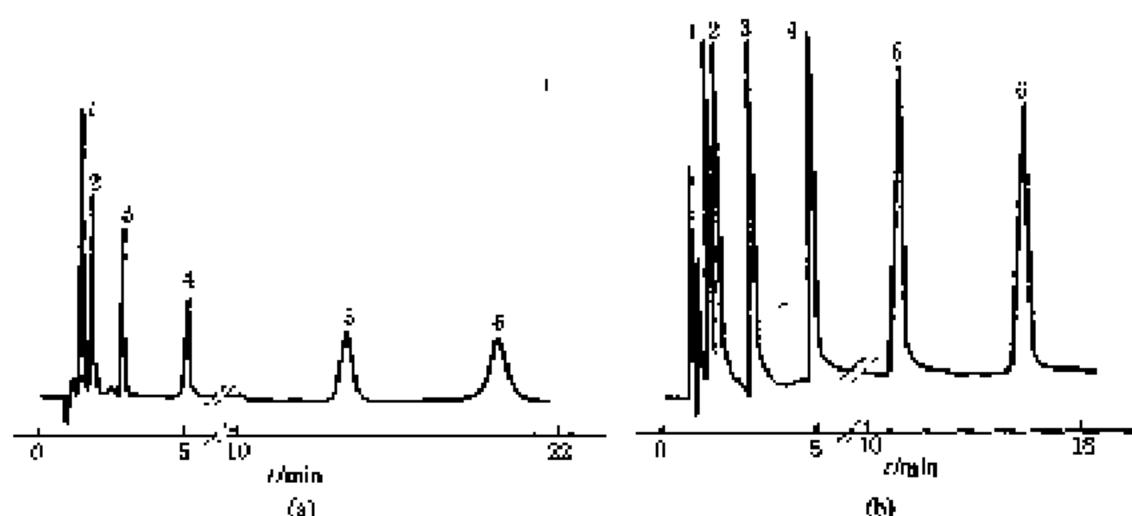


图 10-100　水溶性维生素谱图[45]

色谱峰：1—烟酸；2—烟酰胺；3—黄素单核苷酸；4—维生素 B_6；5—叶酸；6—核黄素

色谱柱：(a) LiChrospher RP-18，125 mm×4.6 mm（内径），5 μm；

　　　　(b) Spherisorb ODS-2，100 mm×2.1 mm（内径），3 μm

流动相：5 $mmol \cdot L^{-1}$ HSA，20%甲醇，0.1%（三乙胺）KH_2PO_4/H_3PO_4，pH=2.8

流　速：(a) 1 $ml \cdot min^{-1}$；

　　　　(b) 0.2 和 0.3 $ml \cdot min^{-1}$

检测器：UV（254nm，280nm）

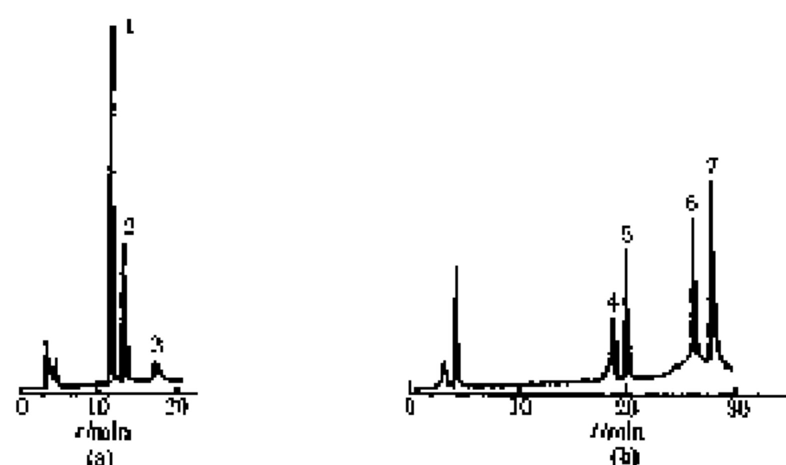


图 10-101　叶酸主要成分的荧光检测谱图[46]

色谱峰：(a) 1—四氢叶酸；2—5-甲基四氢叶酸钠；3—5-甲酰基四氢叶酸钙；4—二氢叶酸；5—蝶酰谷氨酸；6—氨甲蝶呤；7—3',5'-二氯叶酸

　　　　(b) 1—THF；2—5-CH_3-THF；3—5-CHO-THF；4—DHF；5—PteGlu；6—MTX；7—DCF

色谱柱：Shandon Hypersil ODS，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

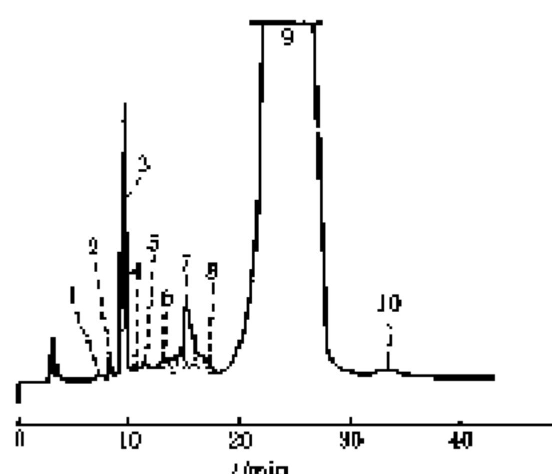
流动剂：5 $mmol \cdot L^{-1}$磷酸（pH2.3）＋乙腈

流　速：0.9 $ml \cdot min^{-1}$

温　度：室温

检测器：荧光(a) λ_{ex}=295 nm，λ_{em}=356 nm；

　　　　　　(b) λ_{ex}=356 nm，λ_{em}=450 nm



色谱峰：1—ETC；2—DMTC + EISOCTC；3—TC；4—EDMCTC；5—ADTC；6—ISOCTC；7—DMCTC；8—ECTC；9—CTC；10—ADCTC

色谱柱：PLRP-S 100 nm，250 mm×4.6 mm（内径），8 μm

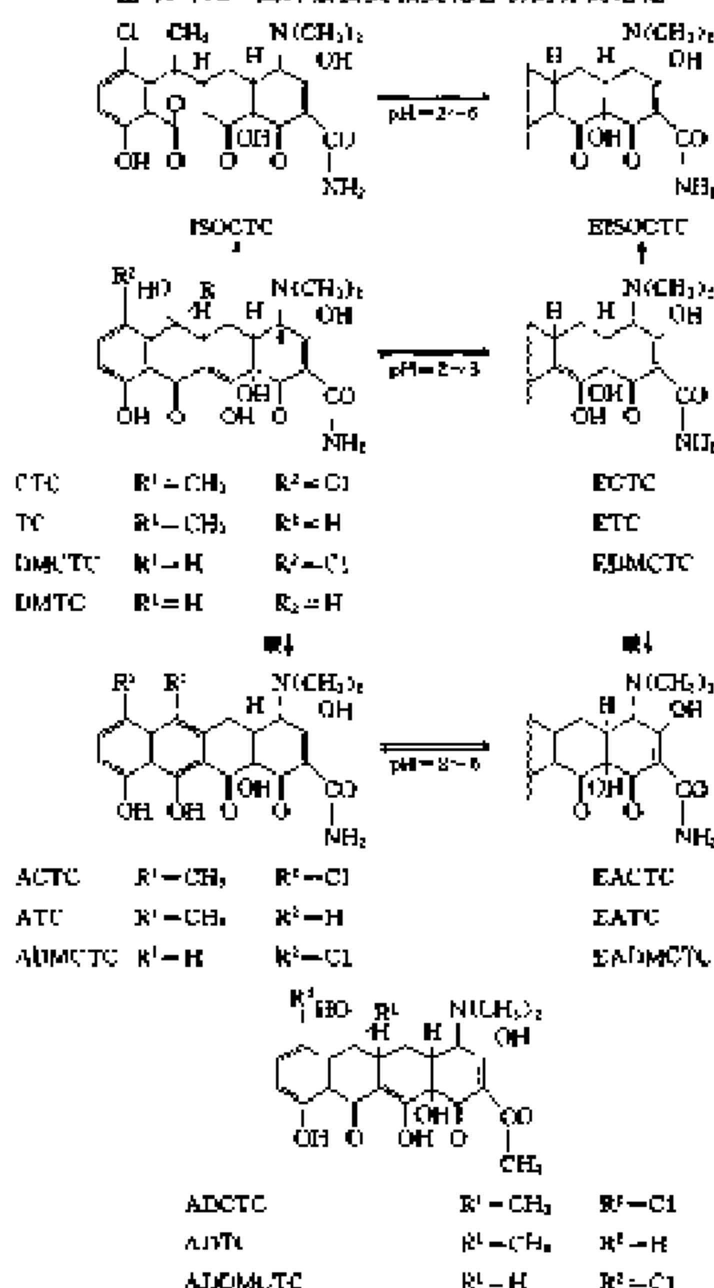
柱　温：60℃

流动相：2-甲基-2-丙醇（8.5g）+1.0 mol·L^{-1} $HClO_4$（5.0ml）+水（100.0ml）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

图 10-102　四环素及其相关化合物的分离谱图[67]



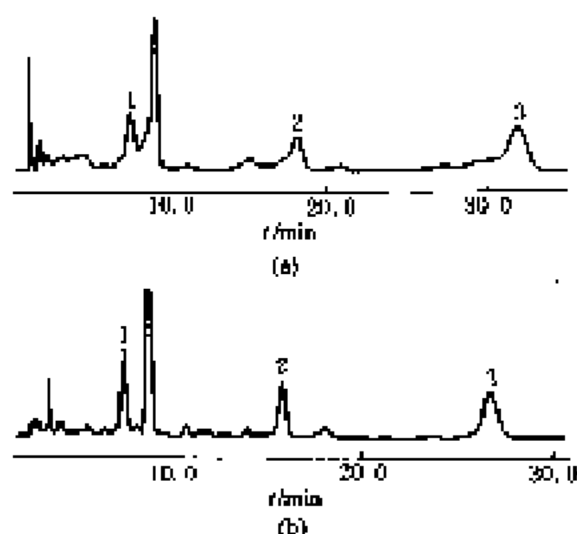


图 10-103　四环素类化合物分离谱图[6]

色谱峰：1—二甲胺四环素；2—四环素；3—脱氧四环素

色谱柱：填充 SymmetryShield™ RP_8，150 mm×3.9 mm（内径），5 μm

保护柱：20 mm×3.9 mm

流动相：(a) 甲醇；

(b) 0.1%TFA＋4%乙腈＋5%甲醇＋水

流　速：0.9 ml·min^{-1}

检测器：UV (270 nm)

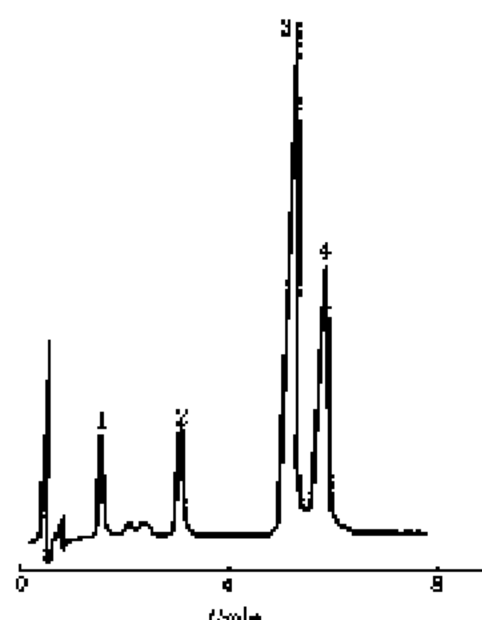


图 10-104　甲状腺素标准混合物的分离谱图[27]

色谱峰：1—T2；2—T3；3—r-T3；4—T4

色谱柱：Chromsphere C_{18}，100 mm×4 mm（内径），5 μm

流动相：磷酸盐缓冲液（0.05 mol·L^{-1}，pH2.5，含有 2.5 mmol·L^{-1}庚烷磺酸和 60mg·L^{-1}Na-EDTA）－甲醇（体积比＝40∶60）

检测器：电化学

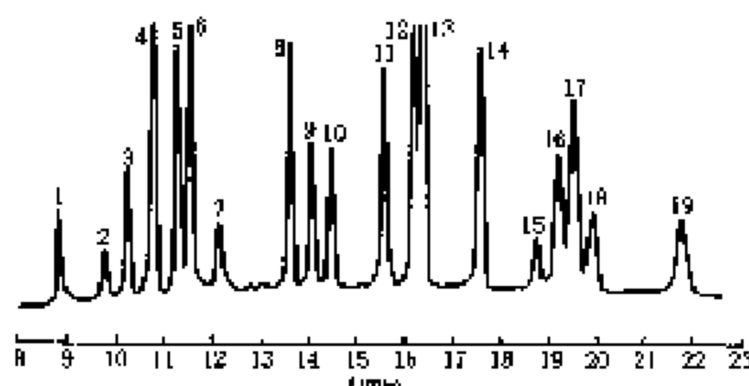


图 10-105　利尿、咖啡因等标准样谱图(一)[16]

色谱峰：1—氨氯吡咪；2—乙酰唑磺胺；3—咖啡因；4—氢氯噻嗪；5—氢氟噻嗪；6—氨苯蝶啶；7—甲吡丙酮；8—氯噻酮；9—二氯苯磺胺；10—氯帕胺；11—三氯甲噻嗪；12—卡马西平；13—速安定；14—苄噻嗪；15—卞氟噻嗪；16—利尿酸；17—丁苯氧酸；18—丙磺舒；19—螺内酯

色谱柱：填充 Hypersil ODS 载体，20 mm×4 mm，5 μm

流动相：0.05 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液－乙腈 在 1000ml 水中溶解 6.9g $NaH_2PO_4·H_2O$ 制成缓冲液

梯度洗脱：以 7%乙腈冲洗到 15%，3.5 min 冲洗至 50%，12 min 然后保持在 50%，12 mm 然后保持在 50%下冲洗 33 min

流　速：1 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV (230 nm)

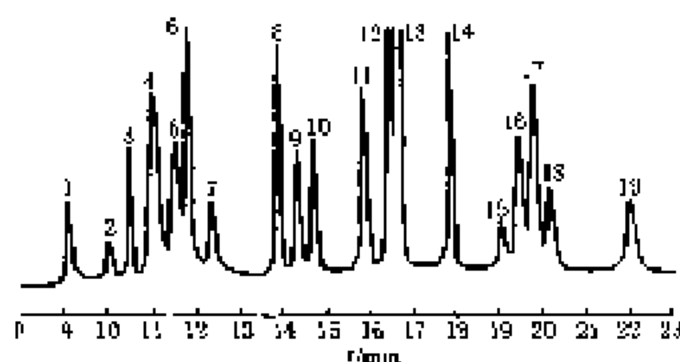


图 10-106 利尿、咖啡因等标准样谱图（二）[16]

色谱峰：1—氨甲吡啶；2—乙酰水杨酸；3—咖啡因；4—氯噻；5—氢化氯噻；6—氨苯蝶啶；7—甲吡丙酮；8—氯噻酮；9—二氯非那胺；10—氯哌酸；11—氯甲噻氮；12—卡马西平 13—速尿；14—苄噻嗪；15—下氯噻嗪；16—利尿酸；17—丁苯氧酸；18—丙磺舒；19—螺内酯

色谱柱：填充 Asahipak ODP 载体，10 mm×4.6 mm

流动相：0.05 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液+乙腈在 1000ml 水中溶解 6.9g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 制成缓冲液

线性梯度：以 7%乙腈冲洗到 15%，5.5 min 冲洗至 50%，12 min 然后保持在 50%，12 min 然后保持在 50%下冲洗 23 min

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（230 nm）

温 度：室温

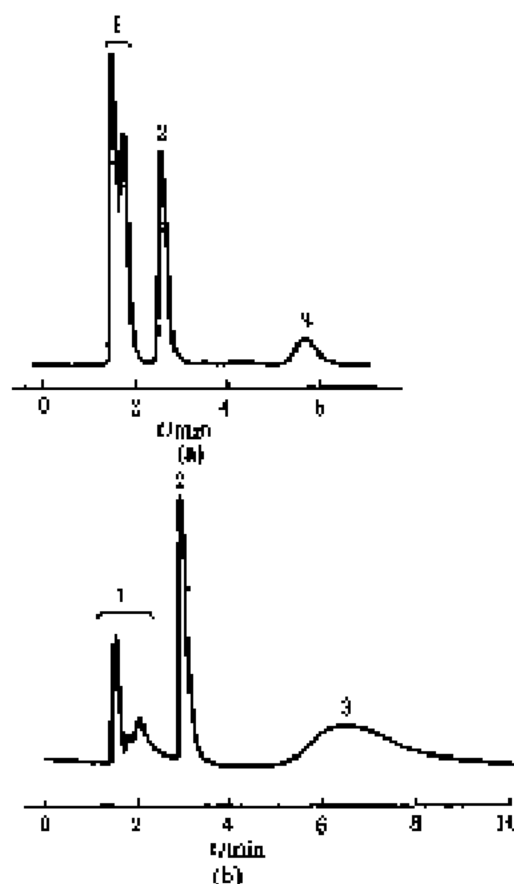


图 10-107 多种维生素分离谱图[20]

色谱峰：1—维生素 B_1+维生素 B_6+维生素 C+VPP；2—维生素 K_3；3—维生素 B_2

色谱柱：Supelcosorb C_{18}，200 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱 温：室温

流动相：0.2 mol·L^{-1} HAc-NaAc+φ=0.1%甲醇（pH5.5）

流 速：[illegible] ml·min^{-1}

检测器：(a) 双电极检测；(b) UV（254 nm）

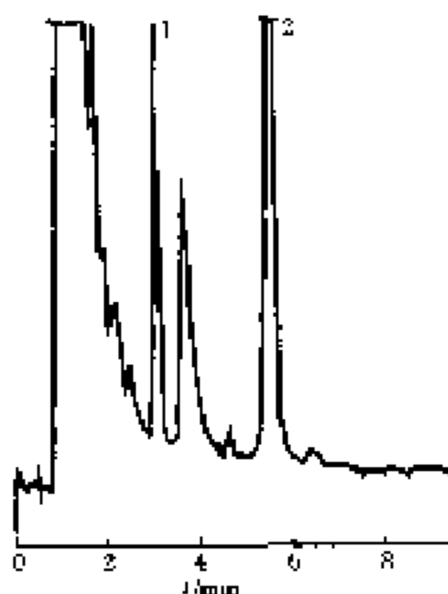


图 10-108 血浆中替氯咪唑谱图[1]

色谱峰：1—替氯咪唑；2—内标物

色谱柱：填充 ZorbaxODS 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱 温：20℃

流动相：乙腈+0.07 mol·L^{-1} NaH_2PO_4（pH3），等度冲洗

流 速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（360 nm）

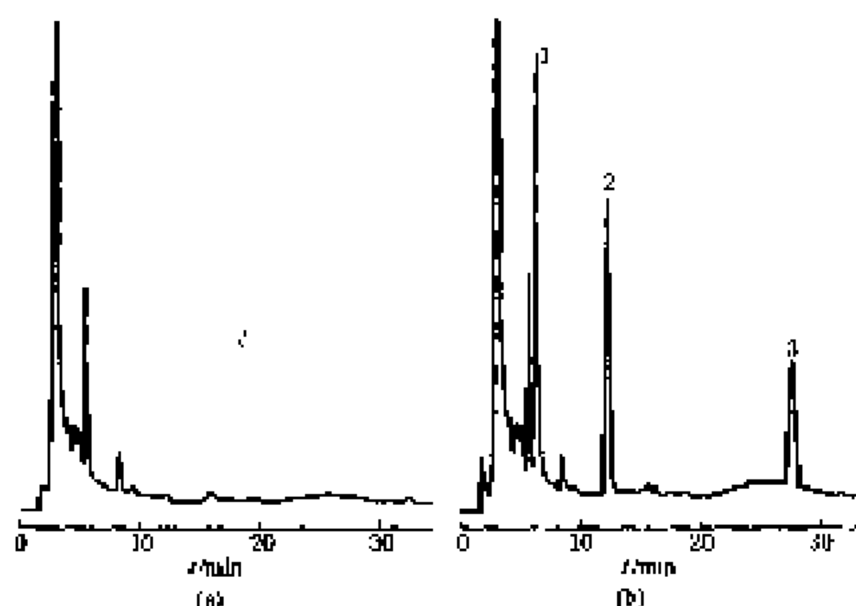


图 10-109　血清中对氨基酚等化合物分离谱图[illegible]

色谱峰：1—对硝基苯酚；2—对氨基酚；3—对乙酰氨基酚

色谱柱：Ultrasorb ODS 30，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

保护柱：Inertsil ODS

前　柱：Li-chroprep RP-8，20 mm×3.0 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：0.02 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH3.0）+乙腈（体积比=1∶9）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）

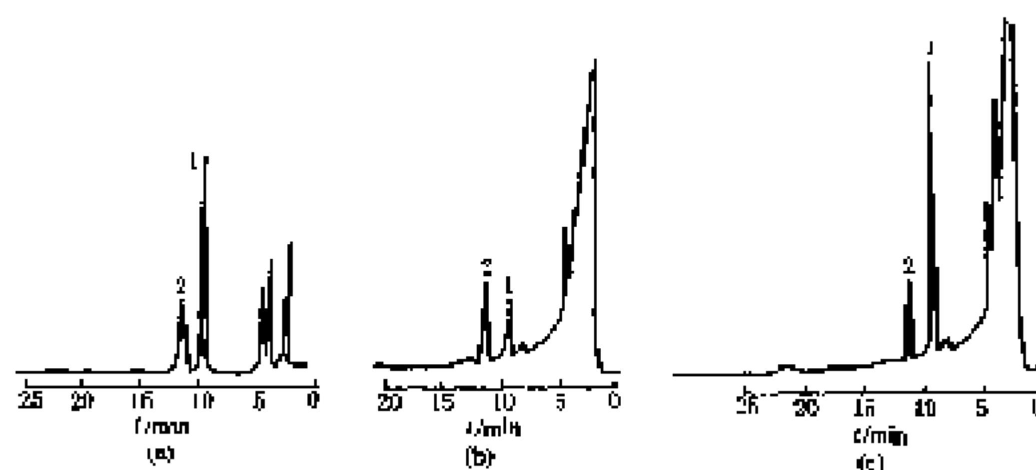


图 10-110　血清中α-维生素E分离谱图[illegible]

(a) α-维生素E和内标物α-维生素E乙酸盐；(b) 空白血清和内标物；(c) 血清和α-维生素E以及内标物

色谱峰：1—α-维生素E；2—α-维生素E乙酸盐

色谱柱：填充5 μm LC18，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：乙腈+二氯甲烷+甲醇（体积比=75∶15∶10）

流　速：1.0 ml·min⁻¹（14 min）→1.4 ml·min⁻¹（10 min）

检测器：UV（292 nm）

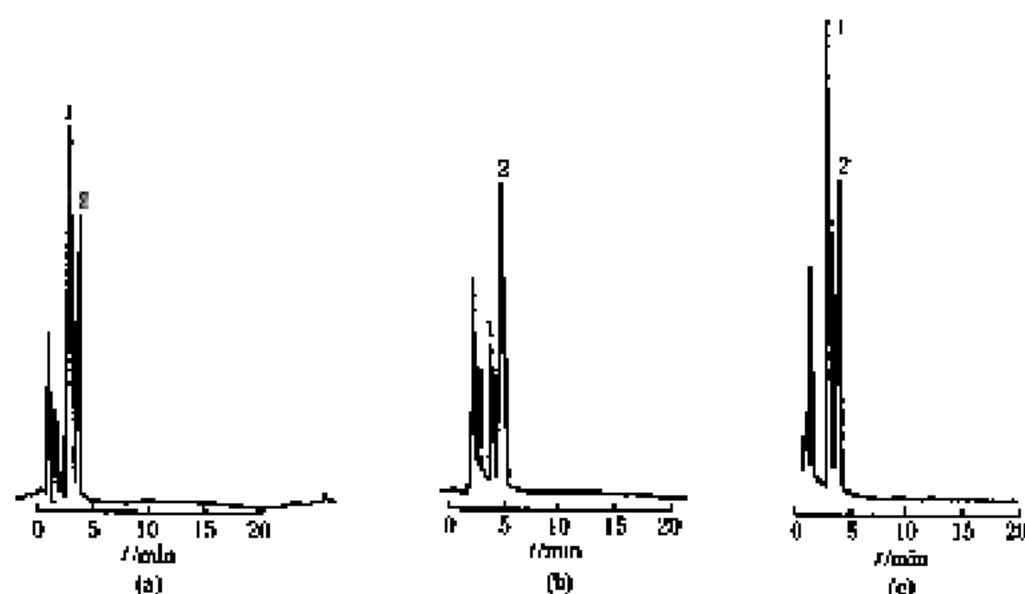


图 10-111　血清中视黄醇及内标物视黄基乙酸酯谱图[75]

(a) 视黄醇和内标物视黄基乙酸酯；(b) 空白血清和内标物；(c) 血清和视黄醇以及内标物

色谱峰：1—视黄醇；2—视黄基乙酸酯
色谱柱：Supelcosil ODS，250 mm×4.6 mm（内径）
预　柱：50 mm×4.6 mm
柱　温：室温
流动相：乙腈+二氯甲烷+甲醇（体积比=75∶15∶10）
流　速：1.0 ml·min⁻¹ (10 min) →1.4 ml·min⁻¹ (10 min)
检测器：UV (325 nm)

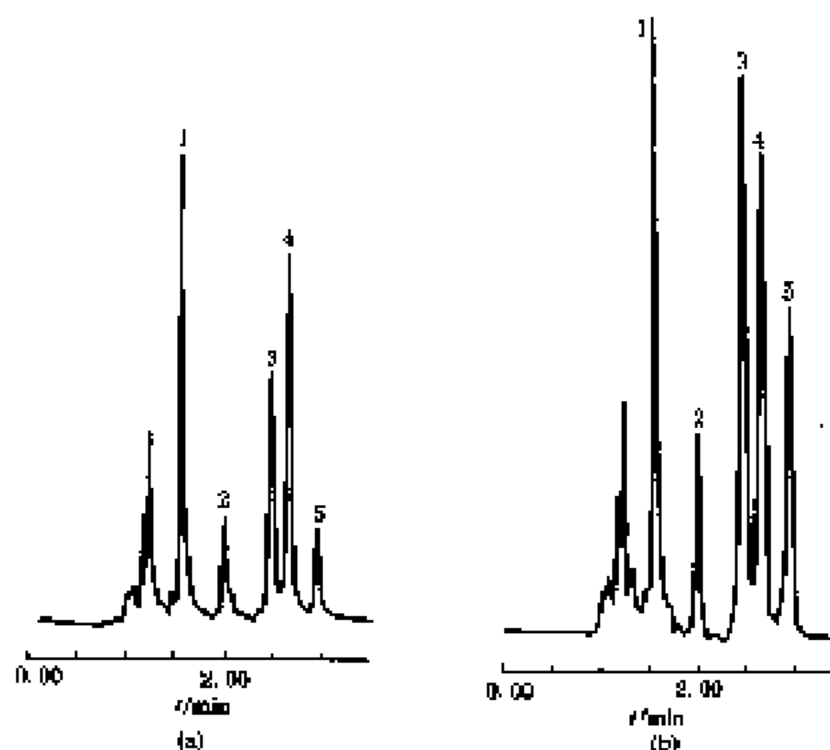


图 10-112　血清样品中抗癫痫药物谱图[76]

色谱峰：1—普里米东；2—苯巴比妥；3—二苯基乙内酰脲钠；4—卡马西平；5—仲丁巴比
色谱柱：惠普 Chromat C_{18} 柱
流动相：36%乙腈+24%甲醇+40%磷酸盐缓冲液（pH=4.0）
检测器：紫外检测，(a) λ=236 nm；(b) 0～1.7 min，λ=228 nm，1.7～2.6 min，λ=225 nm，2.6 min后，λ=290 nm

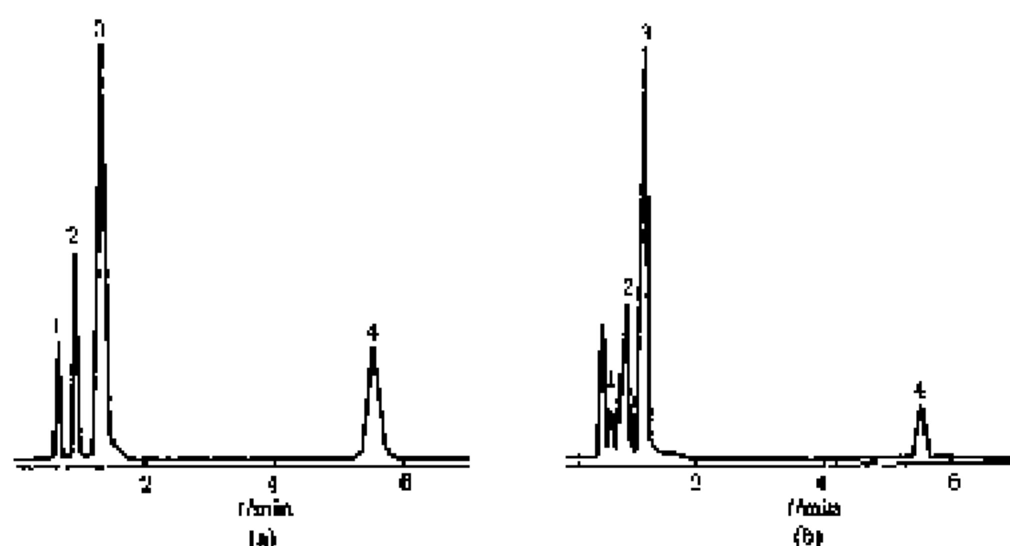


图 10-113 尿中肌酸的代谢性谱图[79]

(a) 标准样；(b) 实测样

色谱峰：1—肌酸；2—尿酸；3—肌酸酐；4—马尿酸

色谱柱：Nova-Pak C_{18}，150 mm×3.9 mm（内径）

柱 温：室温

流动相：0.02 mol·L^{-1} KH_2PO_4（pH6.5）

流 速：1.6 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）

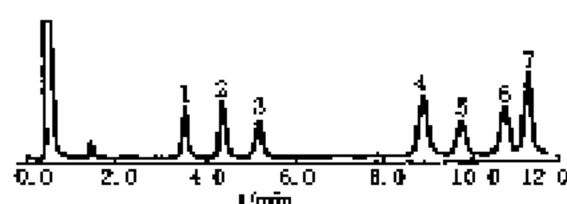


图 10-114 尿中麻黄素和相关化合物谱图[40]

色谱峰：1—降麻黄素；2—降伪麻黄碱；3—甲基麻黄碱；4—β-苯基乙胺；5—苯异丙胺；6—甲基苯异丙胺；7—4-苯基丙胺

色谱柱：Lichrospher 100 RP18，5 μm，125 mm×4 mm（内径）

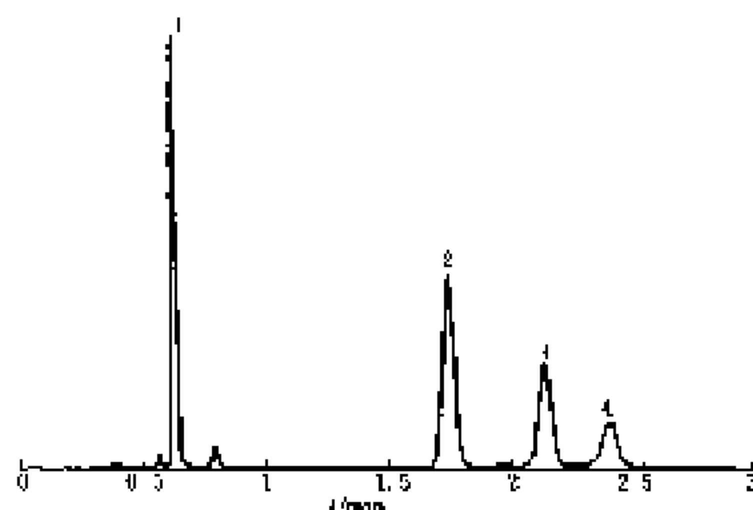
柱 温：室温

流 速：1.0 ml·min^{-1}

流动相：水+乙腈

检测器：二极管矩阵检测器

线性梯度：0 $\xrightarrow{5\ min}$ 40%乙腈 $\xrightarrow{10\ min}$ 50%保持不变



色谱峰：1—头孢他啶；2—头孢噻肟；3—环丙沙星；4—头孢唑啉

色谱柱：Zorbax SB-C_8，75 mm×4.6 mm（内径），3.5 μm

柱 温：60°C

流动相：乙腈+0.1%TFA（体积比=8:92）

流 速：3.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（260 nm）

图 10-115 抗生素高速分离谱图[77]

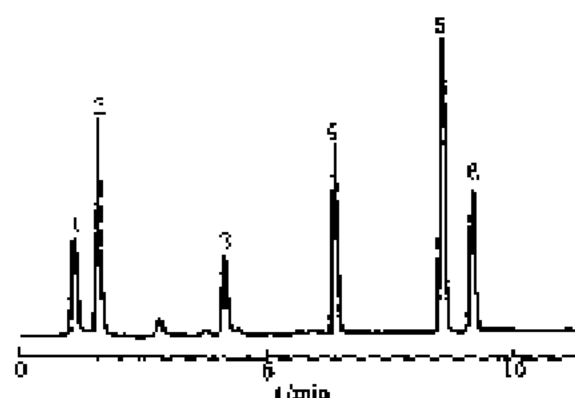


图 10-116　抗菌素分离谱图[72]

色谱峰：1—阿莫西林；2—氨苄西林；3—5-甲基-3-邻氯苯基-4-异噁唑青霉素衍生物；4—青霉素 G；5—苯唑西林；6—5-甲基-3-邻氯苯基-4-异噁唑青霉素

色谱柱：Velosep RP-18（Applied Biosystems），10 cm×3.2 mm（内径），5 μm

流动相：A. 10 mmol·L⁻¹磷酸钠（pH6.5）

B. 50%异丙醇水溶液

线性梯度：10 min 内从 5%B 变至 50%B

流　速：0.5 ml·min⁻¹

温　度：55℃

检测器：UV（230 nm）

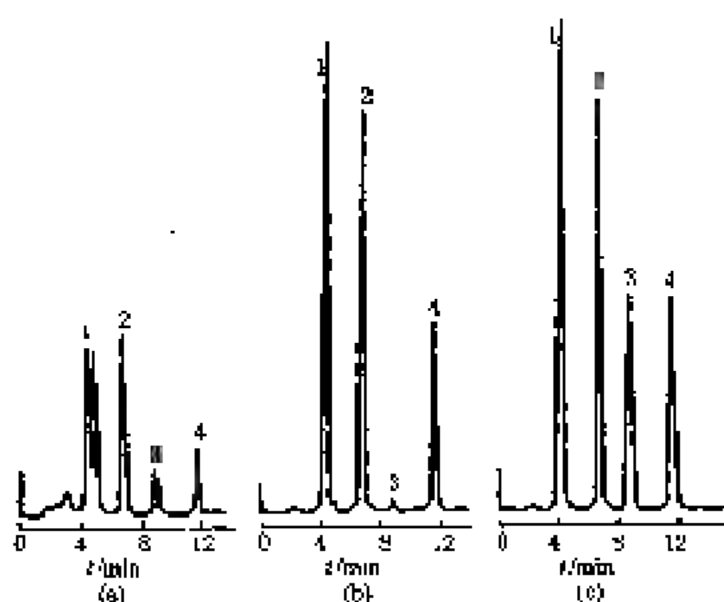


图 10-117　肾上腺素分离谱图[73]

衍生化：(a) PGN；(b) DA；(c) DPE

色谱峰：1—去甲肾上腺素；2—肾上腺素；3—多巴胺；4—盐酸异丙肾上腺素

色谱柱：TSK gel ODS 80TM，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：23

流动相：乙腈＋甲醇＋50 mmol·L⁻¹ Tris（pH7.0）（体积比=5∶1∶5）

流　速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：UV（475 nm）

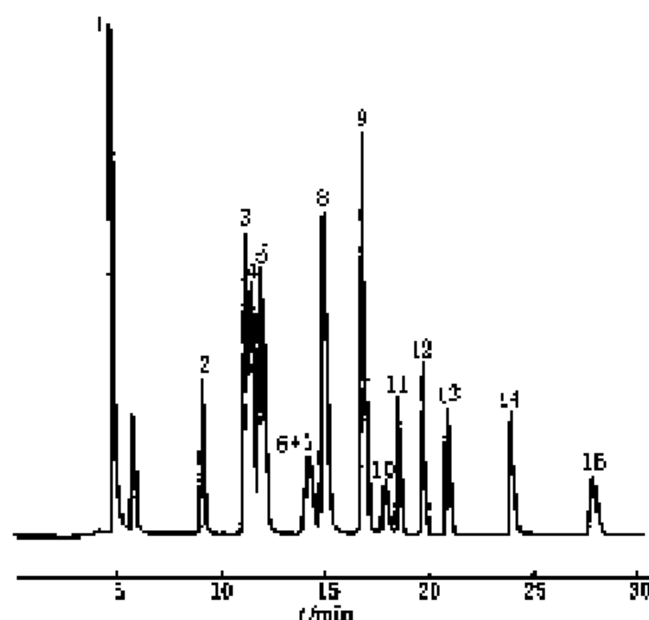


图 10-118 视黄基酯类混合物的分离谱图[19]

色谱峰：1—视黄基乙酸酯；2—视黄基癸酸酯；3—视黄基亚麻酸酯；4—视黄基月桂酸酯；5—视黄基花生四烯酸酯；6+7—视黄基棕榈油酸酯/亚油酸酯；8—视黄基肉豆蔻酸酯；9—视黄基十五烷酸酯；10—视黄基油酸酯；11—视黄基棕榈酸酯；12—视黄基十七烷酸酯；13—视黄基硬脂酸酯；14—视黄基花生酸酯；15—视黄基二十二烷酸酯

色谱柱：Suplex PKb100，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：溶剂 A 乙腈＋甲醇＋二氯甲烷＋正己烷（体积比＝88：4：4：4）

溶剂 B 乙腈＋甲醇＋二氯甲烷＋正己烷（体积比＝70：10：10：10）

梯度冲洗：溶剂 A（1 ml·min^{-1}）等度冲洗 14 min 然后线性冲洗至 10%B 2 min，最后等度冲洗 14 min，流速为 1.5 ml·min^{-1}。

检测器：UV（325 nm）

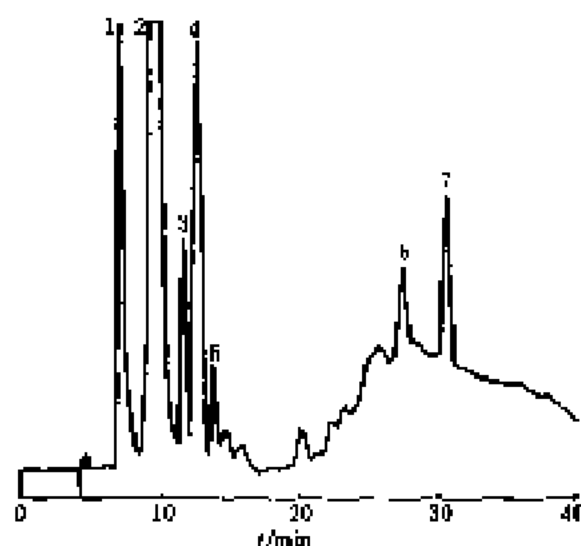


图 10-119 扩展青霉菌代谢物的谱图[10]

色谱峰：1—龙胆霉醇；2—展开青霉素；3—未确定；4—甲基氢醌；5—间羟基苯甲醇；6—6-甲基水杨酸；7—间甲苯酚

色谱柱：Ultrasphere（Altex），25 cm×4.6 mm，5 μm

流动相：A 14 mmol·L^{-1} K_3PO_4（pH6.0）＋0.7 mmol·L^{-1} $[(C_4H_9)_4N]_3PO_4$

B 14 mmol·L^{-1} K_3PO_4（pH6.0）＋0.7 mmol·L^{-1} $[(C_4H_9)_4N]_3PO_4$＋φ=50%甲醇

线性梯度：0～10 min 0%B 至 60%B，10～20 min 60%B 至 100%B，20～30 min 保持 100%B

流 速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）

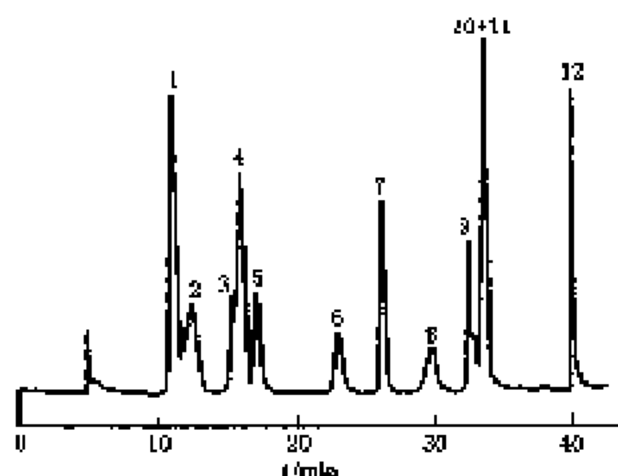


图 10-120 开放青霉菌化合物标准的谱图[90]

色谱峰：1—龙胆酸醇；2—叶点霉素；3—新展开青霉素；4—展开青霉素；5—龙胆酸；6—甲基醌醇；7—间-羟基苯甲醇；8—吡啶叶霉素；9—2,5-二羟苯甲醛；10—间-羟基苯甲醛；11—甲苯醚；12—对甲苯酚

色谱柱：Ultrasphere C_{18} (Altex)，25 cm×1.0 cm，5 μm

流动相：A 水，B 甲醇

梯度淋洗：0~15 min 17.5%B 等度淋洗，(15~45) min 17.5%B 变至 100%B，(45~60) min 100%B 等度

检测器：UV (280 nm)

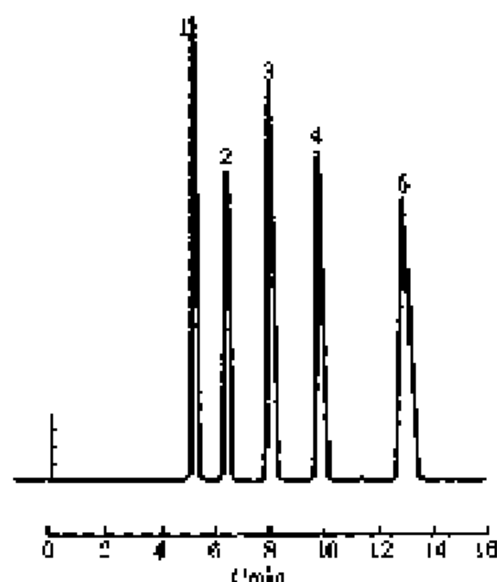


图 10-121 青霉素类化合物分离谱图[91]

色谱峰：1—青霉素 G；2—青霉素 V；3—青霉素 P 12；4—邻氯青霉素；5—二氯青霉素

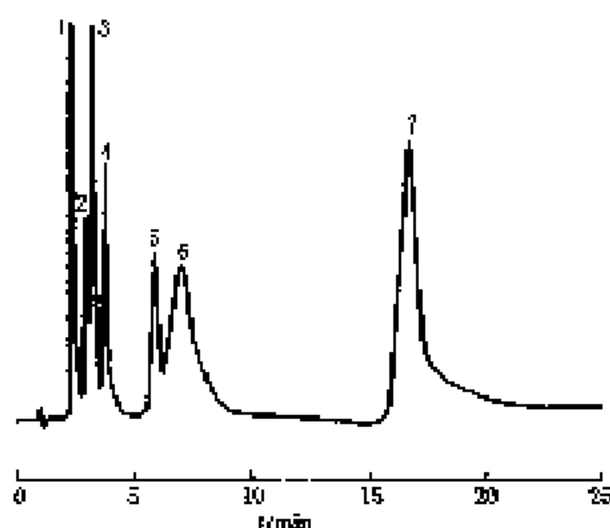
色谱柱：Partisil ODS-3，5 μm

流动相：含有 5 mmol·L^{-1} TBA 的乙腈+0.05 mol·L^{-1} 磷酸盐缓冲液（体积比=38：62）(pH6)

流　速：1 mL·min^{-1}

柱　温：40℃

检测器：UV-vis (220 nm)



色谱峰：1—辛可宁和辛可尼定；2—奎尼定（5 μg）；3—奎宁（5 μg）；4—二氢奎宁（3 μg）；5—[illegible]（8 μg）；6—[illegible]（2 μg）；7—[illegible]

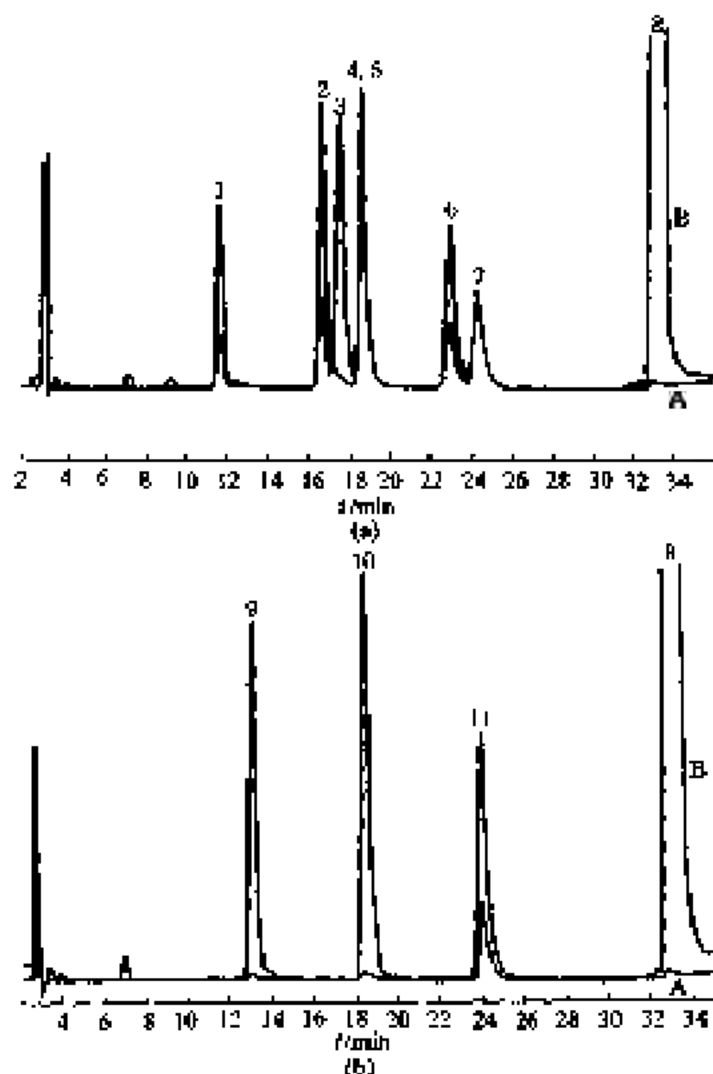
色谱柱：Lichrosorb RP-8 选择 B 柱，25 cm×4 mm（内径）

流动相：0.1 mol·L⁻¹磷酸钾缓冲液+乙腈（体积比=85∶15），外加 5 mmol·L⁻¹己胺，以 85% H_3PO_4 调节到 pH3.0，并加入 φ=2% 的四氢呋喃

泵：型号 2150

检测器：UV（275 nm）

图 10-122 奎宁类化合物的分离谱图[illegible]



色谱峰：1—[illegible]；2—五羟黄酮；3—补骨脂素；4—[illegible]；5—[illegible]；6—[illegible]；7—[illegible]；8—BHA（抗氧化剂）；9—[illegible]；10—[illegible]；11—[illegible]

色谱柱：Phenomenex RP C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

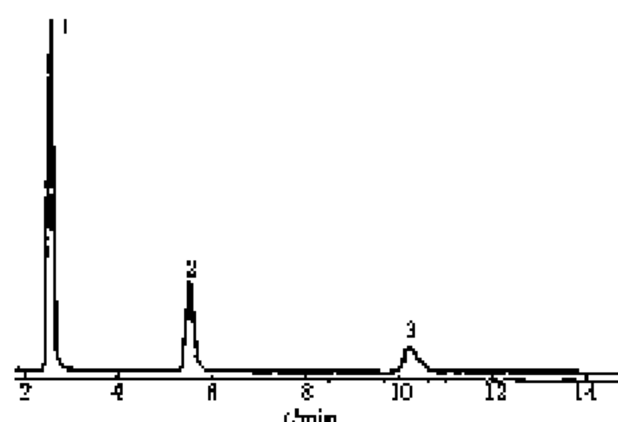
流动相：A. 甲醇+水（体积比=30∶70），内含 1% 甲酸

B. 100% 甲醇

检测器：(a) UV（280 nm）；

(b) UV（365 nm）

图 10-123 标准混合物的分离谱图[illegible]



色谱峰：1—雌酮酚；2—睾丸酮，3—黄体酮

色谱柱：Absorbosphere RP-18，10 μm，4.6 mm×25 cm

流动相：甲醇＋水（体积比＝70：30）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：蒸发光散射（Varex）检测

图 10-124　类固醇分离谱图[84]

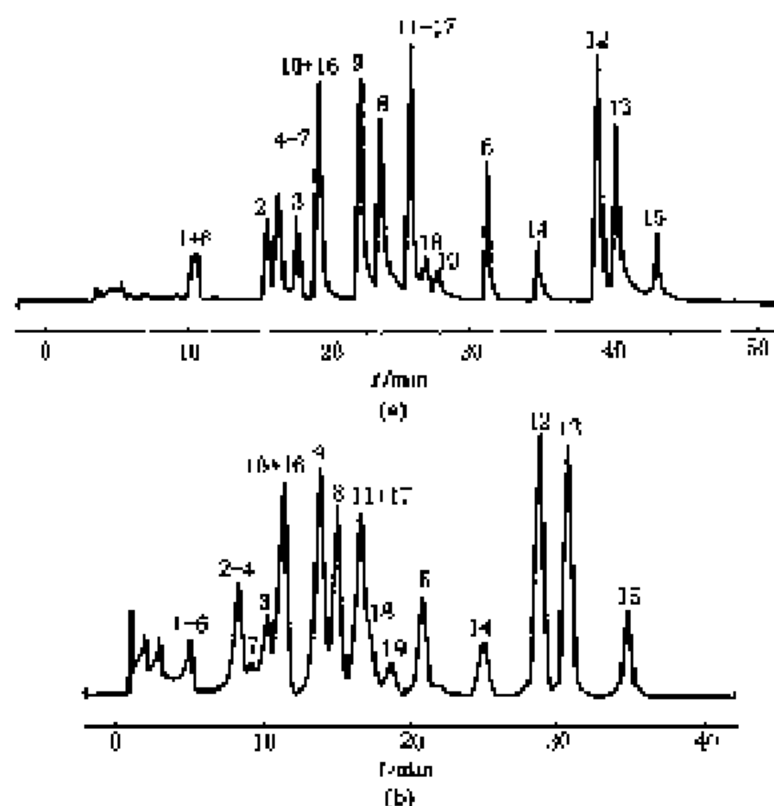


图 10-125　类黄酮标样混合物的分离谱图（一）[85]

色谱峰　1—圣草酚；2—4′,5,7-三羟黄烷酮；3—橙皮素；4—桑叶黄素；5—芹属素；6—杨梅黄酮；7—五羟黄酮；8—莰非醇；9—3,4,7,4′-四羟基 3-甲氧基黄酮；10—醉鱼草素；11—芹菜配基；12—3,7 二羟黄酮；14—高良姜精；14—栎精 3,7 二甲基醚；15—芫花素；16—杨梅-3-甲基醚；17—莰非醇-3 甲基醚；18—异鼠李素；19—杨梅-3,3′-二甲基醚

色谱柱：(a) Spherisorb ODS-2，250 mm×4 mm（内径），3 μm

(b) LiChro CARTRP-18，125 mm×5 mm（内径），5 μm

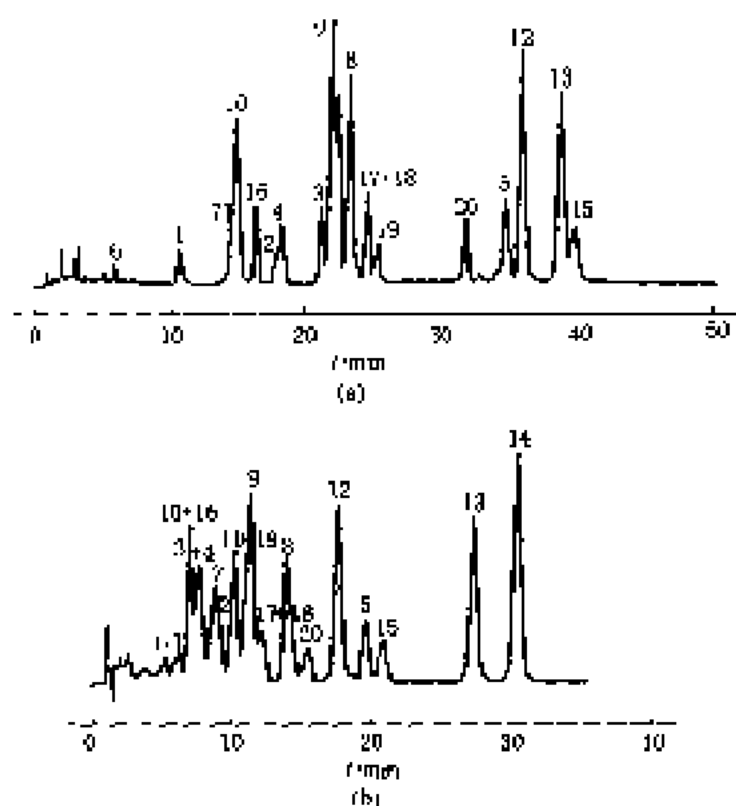
流动相：溶剂 A　水＋甲酸（体积比＝95：5）

溶剂 B　甲醇

梯度冲洗：40%B $\xrightarrow{10\ min}$ 45%B $\xrightarrow{35\ min}$ 60%B $\xrightarrow{50\ min}$ 60%B

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）



色谱峰：1—圣草酚；2—4',5,7-三羟黄烷酮；3—橙皮素；4—短叶松素；5—松属素；6—杨梅黄酮；7—五羟黄酮；8—莰非醇；9—3,5,7,4'-四羟基-8-甲氧基黄酮；10—槲皮配素；11—芹菜配基；12—5,7-二羟黄酮；13—高良姜精；14—5-羟基-7-甲氧黄酮；15—芫花素；16—槲精-5-甲基醚；17—莰非醇-3-甲基醚；18—异鼠李素；19—槲精-3,4'-二甲基醚；20—槲精-3,7-二甲基醚

色谱柱：LiChroCART RP-18，5 μm，125 mm×5 mm（内径）

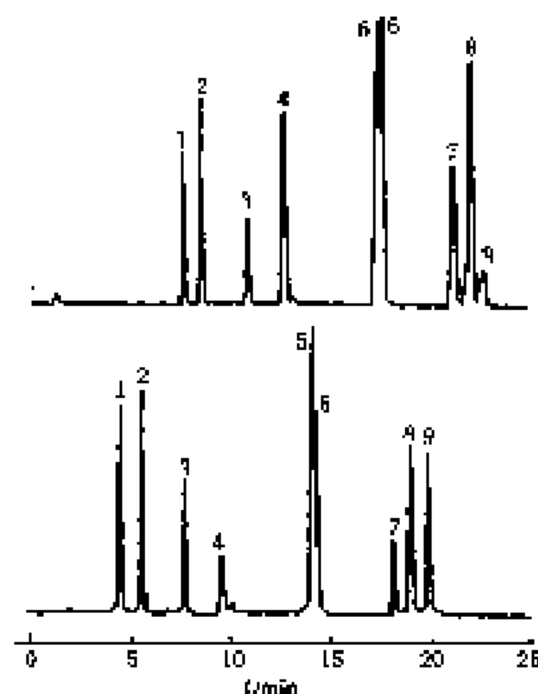
流动相：(a) A 水+5%甲酸；B 乙醇；
(b) A 甲醇-四氢呋喃+水（体积比=25：15：60）内含5%甲酸；B 甲醇

图 10-126 类黄酮标样混合物的分离谱图（二）[95]

梯度冲洗：(a) 20%B $\xrightarrow{5\ min}$ 20%B $\xrightarrow{15\ min}$ 25%B $\xrightarrow{30\ min}$ 35%B $\xrightarrow{50\ min}$ 45%B；

(b) 0%B $\xrightarrow{5\ min}$ 0%B $\xrightarrow{20\ min}$ 10%B $\xrightarrow{30\ min}$ 25%B $\xrightarrow{40\ min}$ 25%B

检测器：UV (340 nm)



色谱峰：1—芦丁；2—五羟黄酮；3—槲皮苷；4—杨梅黄酮；5—槲皮黄素；6—三羟黄酮；7—芹菜苷配基；8—莰非醇；9—异鼠李素

色谱柱：(a) C_{18}，5 μm，150 mm×3.9 mm（内径）；
(b) C_{18}，4 μm，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：(a) (15～35)%乙腈+水，用TFA调节pH2.5；
(b) (20～40)%乙腈+水，用TFA调节pH2.5

流　速：1 mL·min⁻¹

检测器：UV (365 nm)

图 10-127 类黄酮类化合物的分离谱图[96]

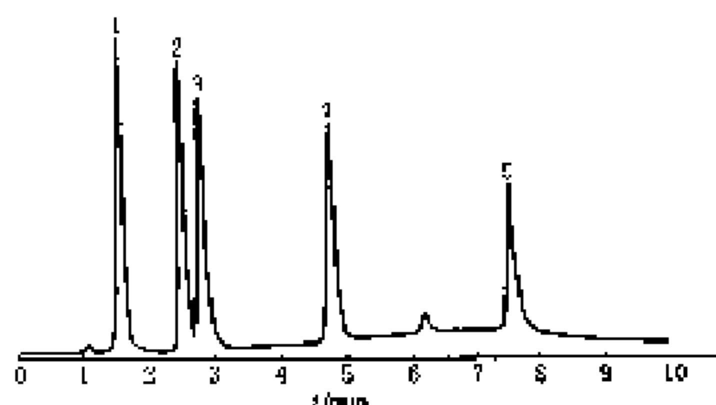


图 10-128　结合胆汁酸的分离谱图[57]

色谱峰：1—牛磺胆酸；2—牛磺熊脱氧胆酸；3—牛磺脱氧胆酸；4—甘氨胆酸；5—甘氨鹅脱氧胆酸

色谱柱：Spherisorb C_{18}（超分离）十八烷基硅，3 μm，25 cm×0.46 mm（内径）

流动相：A. 0.01 mol·L^{-1}三乙胺（用1.2 mol·L^{-1} HCl调至pH2.5）；B. 乙腈

梯度冲洗：$35\%B \xrightarrow{0.5\ min} 35\%B \xrightarrow{5.9\ min} 50\%B \xrightarrow{3.4\ min} 50\%B \xrightarrow{1.0\ min} 35\%B \xrightarrow{0.8\ min} 35\%B$

流　速：2.0 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV（210 nm）

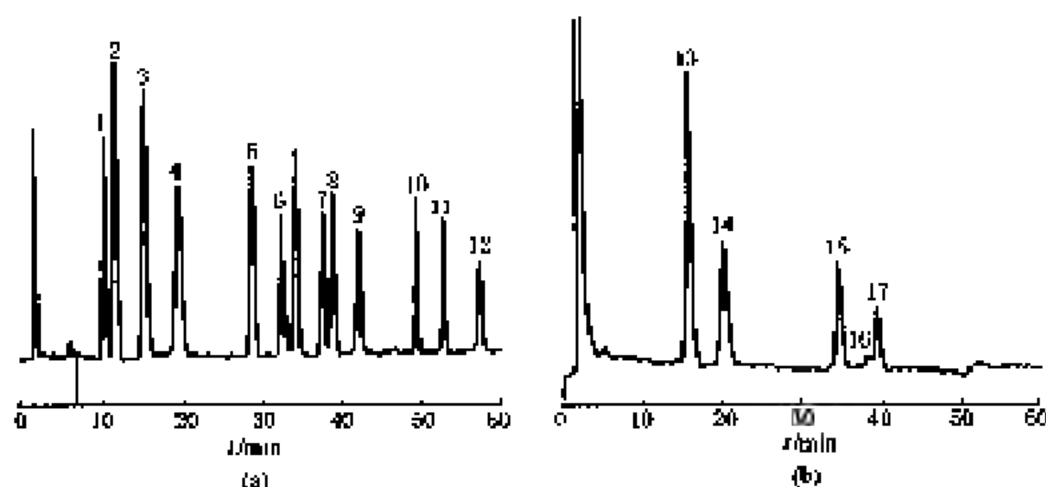


图 10-129　胆汁的分离谱图[40]

(a) 胆汁标准样谱图；(b) 人体T管胆汁酸谱图

色谱峰：1—乌索脱氧胆酸；2—胆酸；3—甘氨胆酸；4—牛胆磺酸；5—熊脱氧胆酸；6—脱氧胆酸；7—甘氨脱氧胆酸；8—牛胆鹅脱氧胆酸；9—牛胆脱氧胆酸；10—石胆酸；11—甘氨石胆酸；12—牛胆石胆酸；13—甘氨胆酸；14—牛胆磺酸；15—甘氨鹅脱氧胆酸；16—甘氨脱氧胆酸；17—牛胆鹅脱氧胆酸

色谱柱：PLRP S（反相树脂）（Polymer Labs），5 μm，150 cm×4.6 mm（内径）

流动相：A. 20%乙腈水溶液；B. 40%乙腈水溶液；C. 0.5 mol·L^{-1} NaOH水溶液

梯度条件：(0～16) min，保持V(A)∶V(B)∶V(C)＝60∶20∶20

(16～34) min，非线性至V(A)∶V(B)∶V(C)＝40∶20∶20

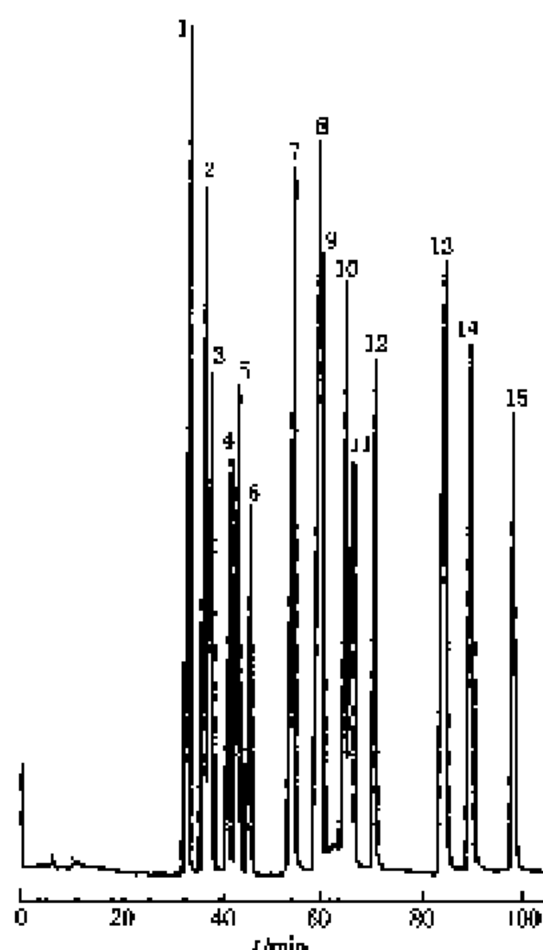
(34～42) min，线性至V(A)∶V(B)∶V(C)＝15∶65∶20

(42～55) min，保持V(A)∶V(B)∶V(C)＝15∶65∶20

流　速：1.3 ml·min^{-1}

温　度：45℃

检测器：脉冲电化学检测（金电极）



色谱峰：1—UDC；2—C；3—GUDC；4—GC；5—TUDC；6—TC；7—CDC；8—DC；9—GCDC；10—GDC；11—TCDC；12—TDC；13—LC；14—GLC；15—TLC

色谱柱：填充ODS 200 mm×0.26 mm（内径）

保护柱：填充ODS 5 mm×0.20 mm（内径）

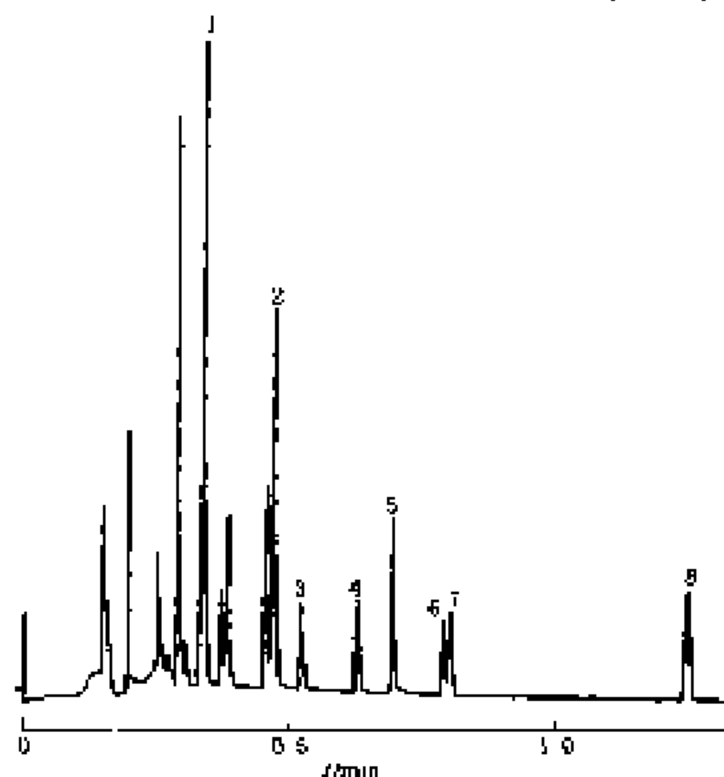
流动相：A. 60 mmol·L^{-1}磷酸盐（pH9.8）－60 mmol·L^{-1}硼酸盐（pH8.9）（内含18 mmol·L^{-1} NAD）＋乙腈（体积比＝70：10：20）

B. 60 mmol·L^{-1}磷酸盐（pH9.8）＋60 mmol·L^{-1}硼酸盐（pH8.9）（内含NAD）＋乙腈（体积比＝30：10：60）

后处理柱：80 mm×0.34 mm（内径），填充HSD

检测器：荧光（λ_{ex}＝365 nm，λ_{em}＝470 nm）

图10-130　胆汁酸合成混合物的分离谱图



色谱峰：1—甘氨胆酸；2—甘氨脱氧胆酸；3—胆酸；4—熊脱氧胆酸；5—甘氨石胆酸；6—脱氧胆酸；7—鹅脱氧胆酸；8—石胆酸

色谱柱：C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

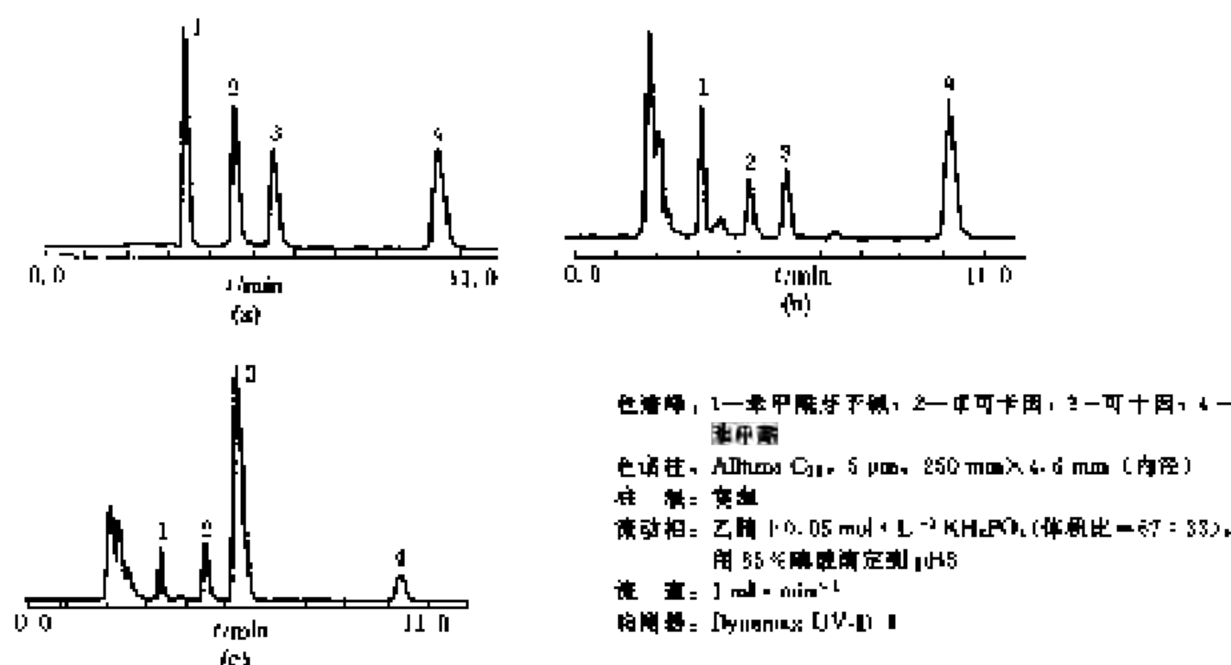
流动相：水＋乙腈

梯度冲洗从（75～100）%乙腈

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV

图10-131　胆汁酸混合物标准样（溴甲基香豆素衍生化）分离谱图



色谱峰：1—苯甲酰芽子碱；2—去甲可卡因；3—可卡因；4—[illegible]

色谱柱：Alltima C_{18}，5 μm，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：乙腈+0.05 mol·L^{-1} KH_2PO_4（体积比=67∶33），用85%磷酸调定到pH5

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：Dynamax UV-D Ⅱ

图 10-132　胞液中的可卡因的分离谱图[85]

（a）生物测标样；（b）胞液和标准样；（c）胞液和1.2 mmol·L^{-1}标样可卡因

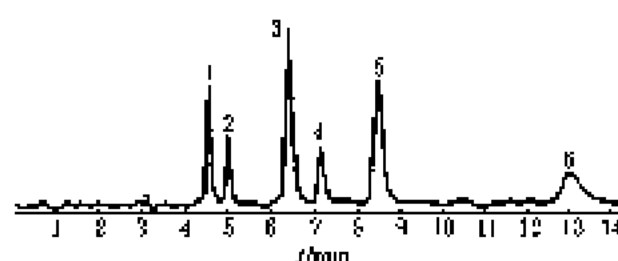


图 10-133　脂溶性维生素分离谱图（　）[28]

色谱峰：1—维生素A；2—维生素A乙酸盐；3—维生素D_3；4—维生素E；5—维生素E；6—维生素A棕榈酸盐

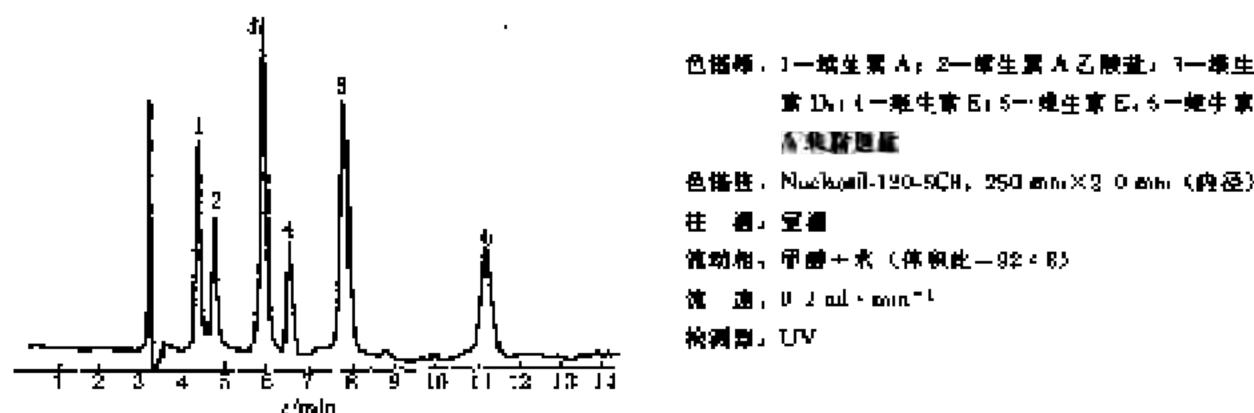
色谱柱：Nucleosil-120-5C8，250 mm×4.0 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：甲醇+水（体积比=92∶8）

流　速：0.7 ml·min^{-1}

检测器：UV



色谱峰：1—维生素A；2—维生素A乙酸盐；3—维生素D_3；4—维生素E；5—维生素E；6—维生素A棕榈酸盐

色谱柱：Nucleosil-120-5C18，250 mm×2.0 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：甲醇+水（体积比=92∶8）

流　速：0.2 ml·min^{-1}

检测器：UV

图 10-134　脂溶性维生素分离谱图（二）[28]

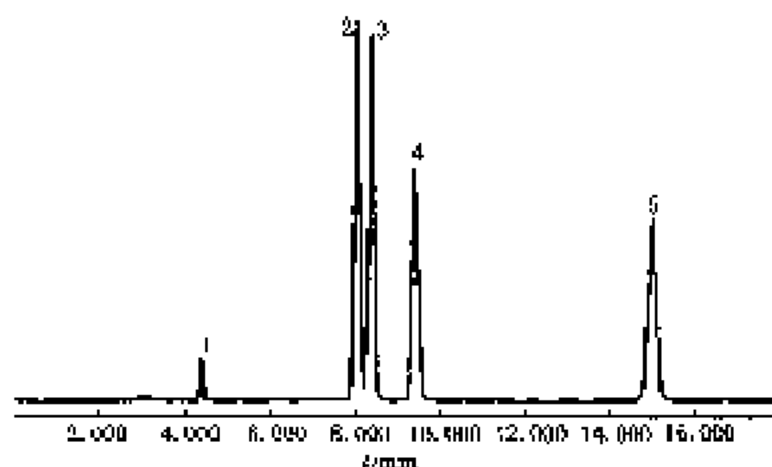


图 10-135 脂溶性维生素分离谱图（三）[illegible]

色谱峰：1—维生素 A；2—维生素 D_2；3—维生素 D_3；4—维生素 E；5—维生素 K_1

色谱柱：DuPont PRO-10 RP-18，0.46 cm×25 cm，10 μm

流动相：甲醇＋乙腈＋己烷（体积比＝95∶3∶2）

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：蒸发散射检测器

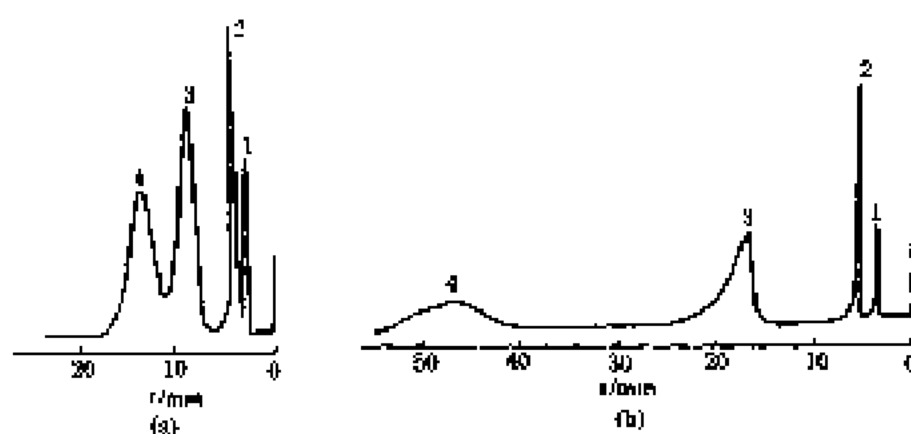


图 10-136 麻黄碱等药物分离谱图[illegible]

色谱峰：1—麻黄碱；2—苯佐卡因；3—马钱子碱；4—普萘洛尔

色谱柱：(a) [illegible]化 DMCN DVB 100 mm×4 mm（内径）

(b) PRP-1 150 mm×4.1 mm（内径），5 μm

流动相：甲醇＋0.25 mol·L^{-1} NaOH（体积比＝90∶10）

流 速：0.5 ml·min^{-1}

压 力：(a) 17.2 MPa；(b) 10.2 MPa

检测器：UV（254 nm）

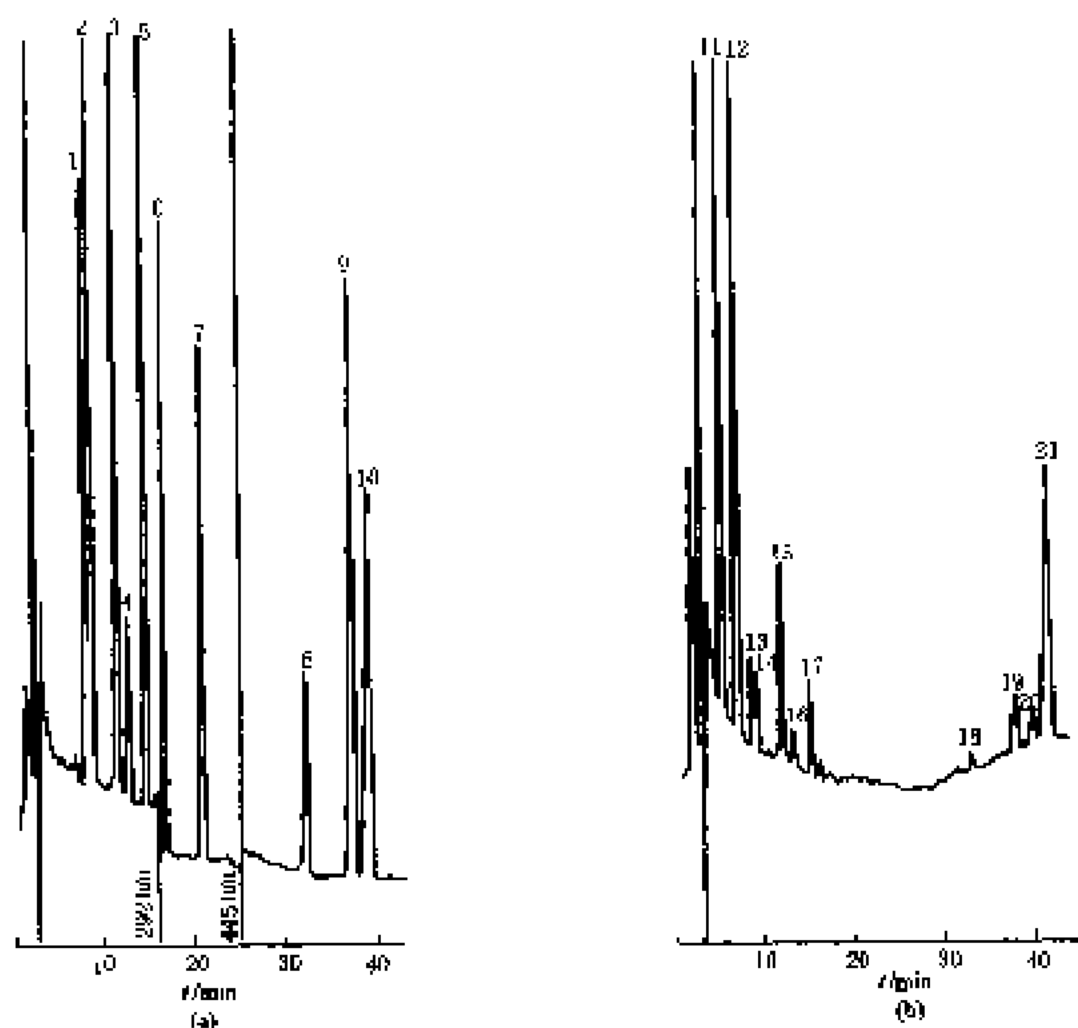


图 10-137 维生素 A 衍生物混合物谱图（一）[24]

色谱峰：1—β-脱辅基-12'-叶黄素醛；2—β-脱辅基-10'-叶黄素醛；3—β-脱辅基-8'-叶黄素醛；4—β-脱辅基-6'-叶黄素醛；5—乙基-β-脱辅基-8'-carotenoate；6—α-生育酚；7—α-生育乙酸；8—γ-胡萝卜素；9—α-胡萝卜素；10—β-胡萝卜素；11—视黄醇；12—视黄基乙酸；13—β-从-12'-叶黄素醛；14—β-脱辅基-10'-叶黄素醛；15—β-脱辅基-8'-叶黄素醛；16—β-从-6'-叶黄素醛；17—乙基-β-从-8'-carotenoate；18—γ-胡萝卜素；19—α-胡萝卜素；20—β-胡萝卜素；21—视黄基棕榈酸

色谱柱：(a) 填充 Hypersil ODS，125 mm×4.6 mm（内径），3 μm；

(b) 填充 Nucleosil 120-3 C_{18} 载体，125 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) 乙腈+二氯甲烷+甲醇+水（体积比=70∶10∶15∶5）；

(b) 乙腈+0.1 mol·L^{-1} NH_4AC（体积比=80∶20）

流　速：(a) (0.5～2.0) ml·min^{-1}；(0～13) min，0.6 ml·min^{-1}；(14～24) min，1.0 ml·min^{-1}；(25～46) min，1.5 ml·min^{-1}；(47～57) min，2.0 ml·min^{-1}；(58～60) min，0.5 ml·min^{-1}

(b) 1.0 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV (445，292，445 nm)；

(b) UV (350 nm)

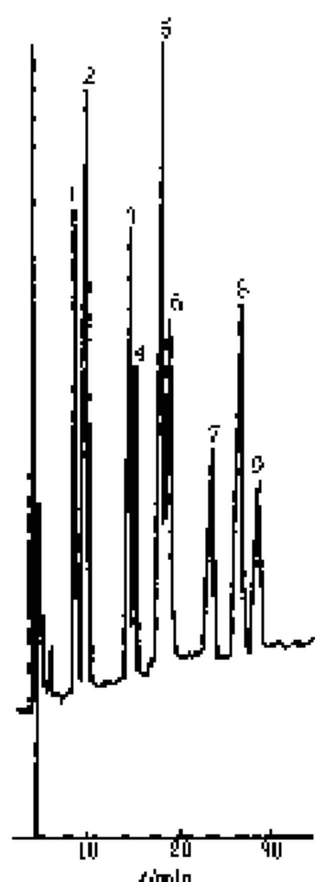


图 10-138 维生素A衍生物混合物谱图（二）[75]

色谱峰：1—13-顺-视黄酸；2—全反式视黄酸；3—13-顺-视黄醛；4—全反式视黄醛；5—9-和13-顺视黄醇；6—全反式视黄醇；7—阿维A酯；8—13-顺-视黄基乙醚；9—全反式视黄基乙醚

色谱柱：填充Nucleosil 120-3 C_{18}颗粒，125 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈+0.1mol·L^{-1} NH_4AC（体积比=80:20）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（350 nm）

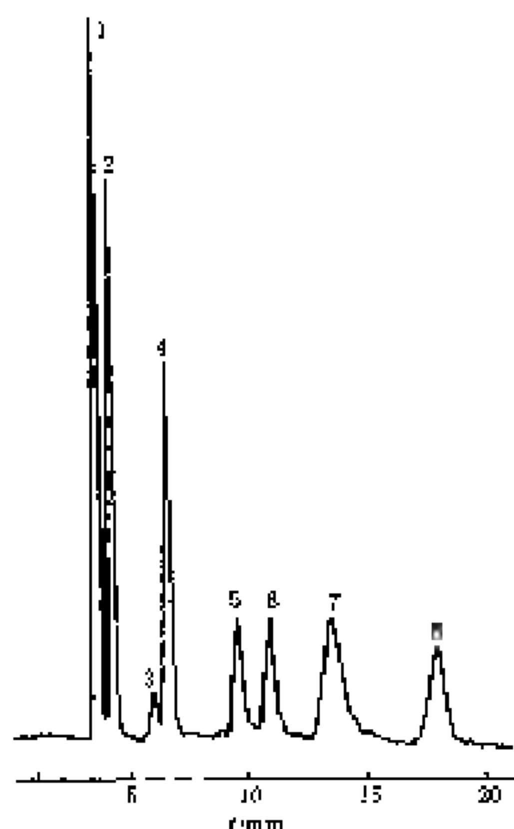


图 10-139 维生素B_6及有关化合物分离谱图[76]

色谱峰：1—5'-磷酸吡哆胺（PMP）；2—吡哆胺（PM）；3—5'-磷酸吡哆醛（PLP）；4—5'-磷酸吡哆素（PNP）；5—吡哆醛（PL）；6—异吡哆醛（iso-PL）；7—吡哆素（PN）；8—4-吡哆酸（PA）

色谱柱：Phenosphere ODS，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

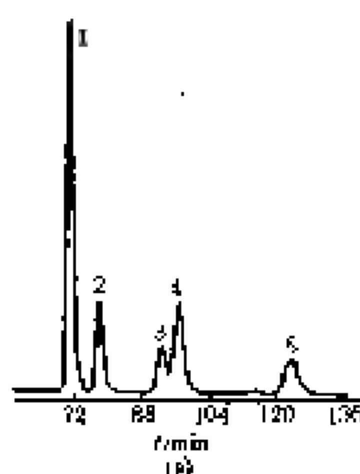
保护柱：5 μm Phenosphere ODS2

柱　温：室温

流动相：0.15 mol·L^{-1} NaH_2PO_4（用$HClO_4$调至pH2.5）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=280 nm，λ_{em}=389 nm）



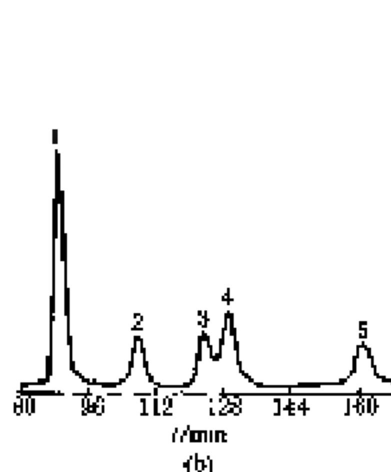




图 10-140 维生素E组分的分离谱图[77]

色谱峰：1—δ-维生素E；2—δ_2-维生素E；3—β-维生素E；4—γ-维生素E；5—α-维生素E

色谱柱：(a)、(b) HPPVA；(c) PFPS

流动相：(a) 乙腈+水（体积比=85:15）；(b)、(c) 甲醇+H_2O（体积比=87.5:12.5）

流　速：1 ml·min^{-1}　　柱　温：室温　　检测器：UV

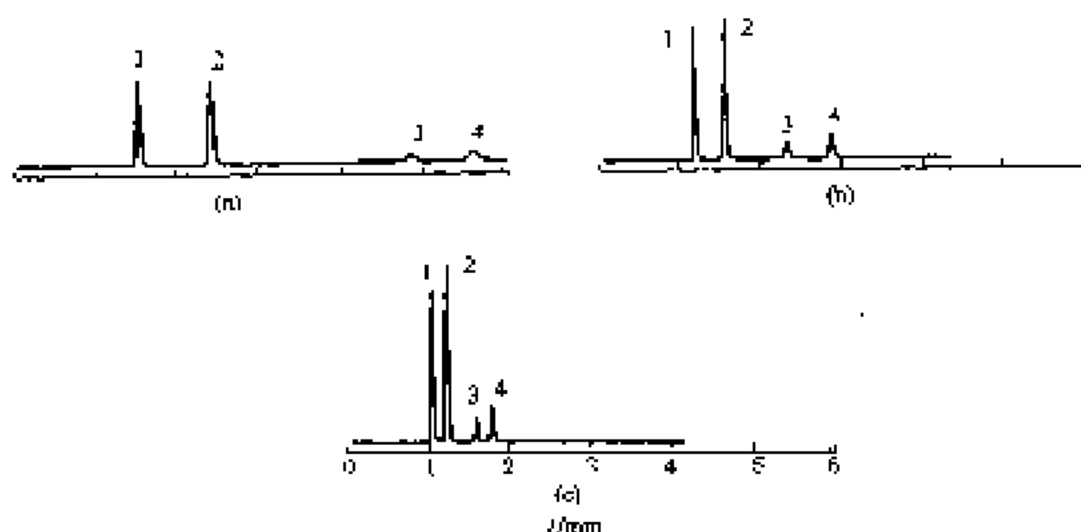


图 10-141 温度对水溶性维生素分离影响谱图[27]

色谱峰：1—维生素B_3；2—维生素B_6；3—维生素B_2；4—维生素B_1

色谱柱：Zorbax SB-C8，75 mm×4.6 mm（内径），3.5 μm

柱　温：30℃，60℃，90℃

流动相：MeOH-水，内含 10 mmol·L⁻¹己烷磺酸盐+0.1%磷酸

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV

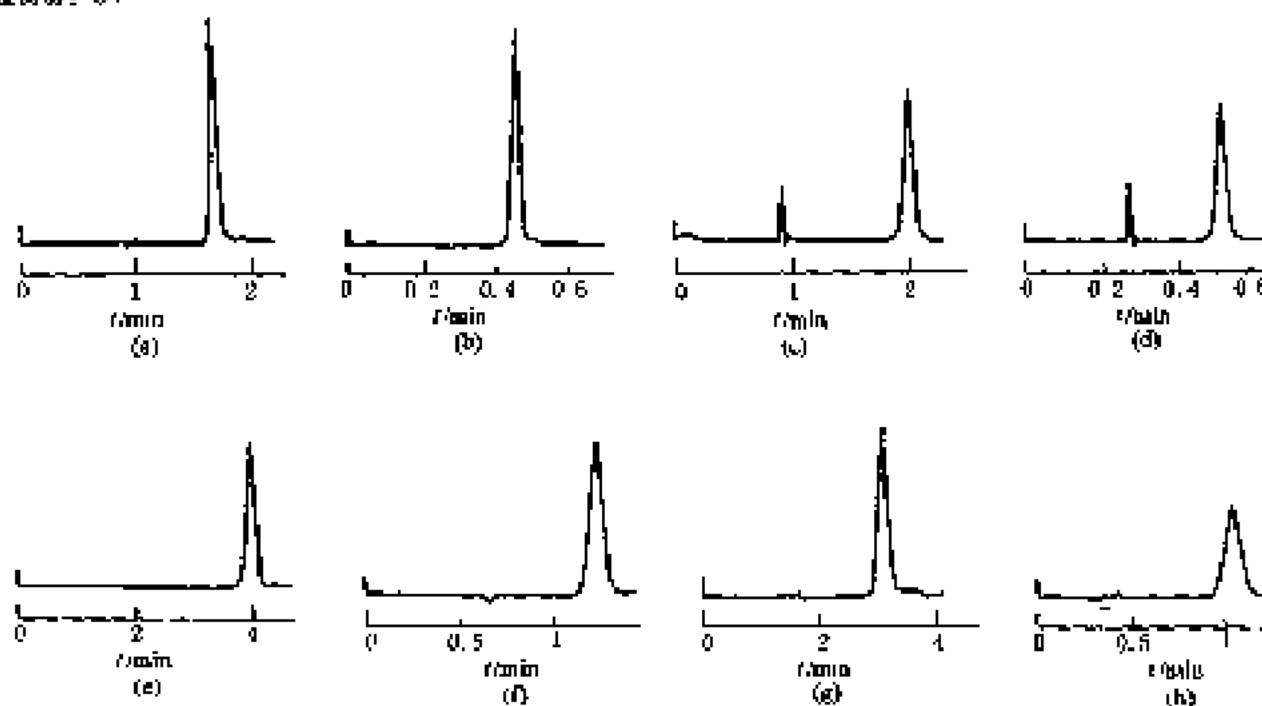


图 10-142 胰岛素等度洗脱谱图[28]

色谱峰：胰岛素

色谱柱：(a)、(b) SR-(Ⅰ)-1-C_{18}；

(c)、(d) SR-(Ⅰ)-S-C_{18}；

(e)、(f) Capcellpak C_{18} SG；

(g)、(h) Capcellpak C_{18} UG

流动相：(a)、(b)、(c)、(d) 乙腈+水（体积比=30∶70）；

(g)、(h) 乙腈+水（体积比=31.5∶68.5）；

(e)、(f) 乙腈+水（体积比=32∶68，内含 0.1% TFA）

流　速：(a)～(h) 分别为 1.4 mm·s⁻¹，5.3 mm·s⁻¹，1.5 mm·s⁻¹，5.1 mm·s⁻¹，1.8 mm·s⁻¹，6.0 mm·s⁻¹，1.8 mm·s⁻¹，5.8 mm·s⁻¹

检测器：UV（215 nm）

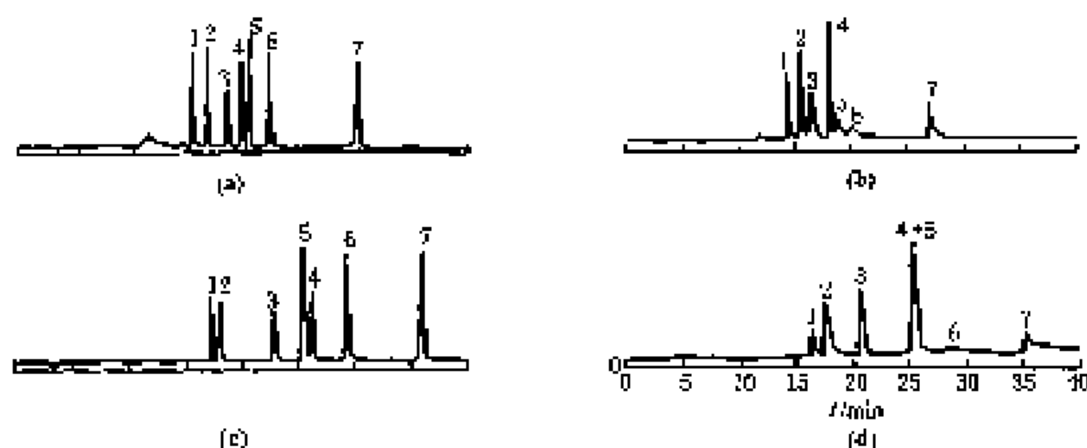


图 10-143　酸对儿茶素混合物分离影响谱图[56]

色谱峰：1—表儿茶素；2—儿茶素；3—咖啡因；4—表儿茶素；5—表儿茶素酯；6—表儿茶酸；7—表儿茶素酸

色谱柱：Zorbax Rx-C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) A 水+0.05%TFA；B 乙腈+0.05%TFA；

(b) A 水；B 乙腈；

(c) A 水+0.05%TFA；B MeOH-乙腈+0.05%TFA（体积比=60∶40）；

(d) A 水；B MeOH-乙腈

梯度冲洗：(a)，(b)

时间/min	0	25	30	35
φ(B)/%	12	20	85	100

(c)，(d)

时间/min	0	5	50
φ(B)/%	10	15	40

检测器：UV（210 nm）

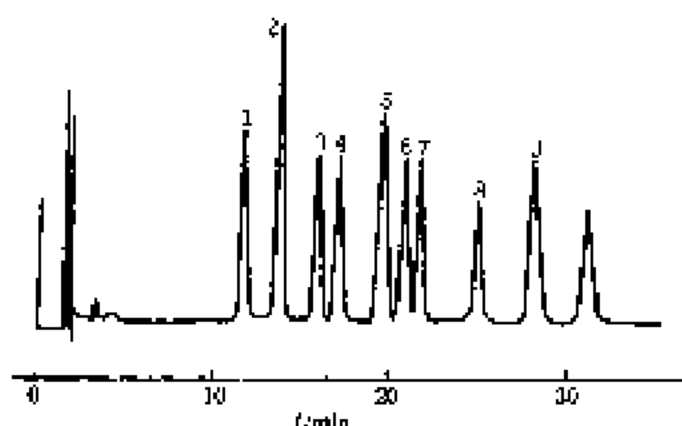


图 10-144　雌激素典型谱图[57]

色谱峰：1—17α-二氢马烯雌酮；2—17β-二氢马烯雌酮；3—17β-羟基-3-甲氧基雌酮；4—雌二醇；5—马萘雌酮；6—2-甲氧基马烯雌酮；7—马烯雌酮；8—3-甲氧基马烯雌酮；9—3-甲氧基雌酮

色谱柱：Cosmosil 5C_{18}-AR

流动相：0.5%乙酸盐缓冲液（pH5.0）+甲醇+乙腈（体积比=60∶8∶30）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电化学

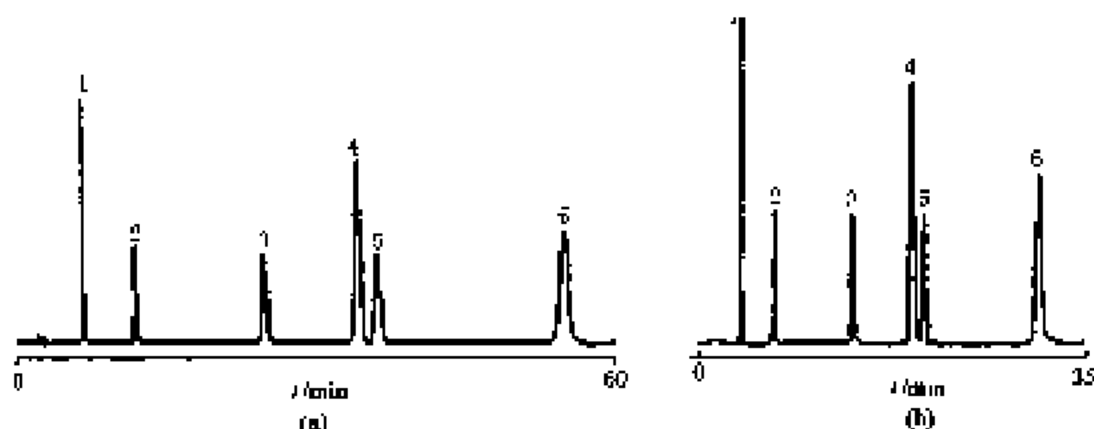


图 10-145　磺胺类化合物谱图[?]

色谱峰：1—磺胺二甲基嘧啶；2—呋喃唑酮；3—1,2,3,4-[illegible]；4—磺胺二甲氧嘧啶；5—磺胺喹噁啉；6—[illegible]

色谱柱：(a) Zorbax SB-C_8，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm；

(b) Zorbax SB-C_{18}，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+0.1 mol·L^{-1}柠檬酸+0.2 mol·L^{-1} NaH_2PO_4（体积比=200∶713∶87）

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV

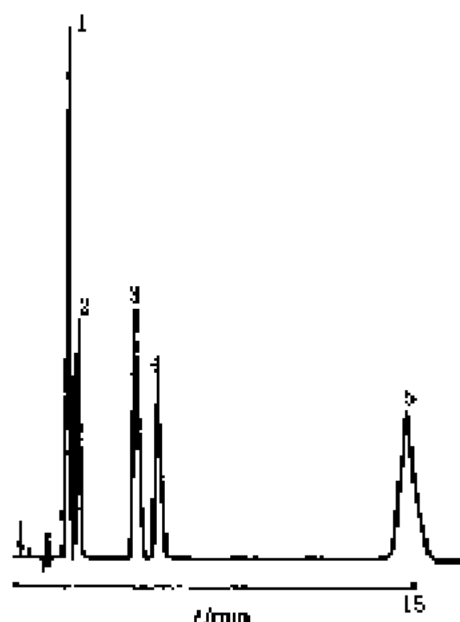


图 10-146　磺胺类化合物谱图（一）[?]

色谱峰：1—磺胺嘧啶；2—磺胺噻唑；3—磺胺甲基嘧啶；4—磺胺二甲嘧啶；5—磺胺二甲异噁唑

色谱柱：ChromSpher C_{18} (Chrompack) 键合十八烷基硅，10 cm×3.0 mm（内径），5 μm

流动相：0.02mol·L^{-1} NaH_2PO_4 (pH3.3) + 乙腈（体积比=90∶10）

流　速：0.8 mL·min^{-1}

检测器：UV (254 nm)

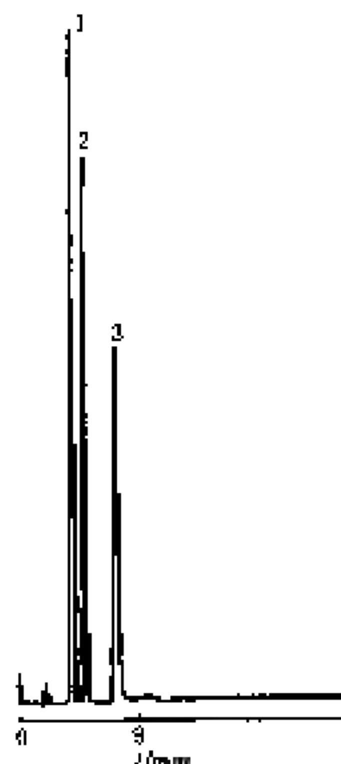


图 10-147　磺胺类化合物谱图（二）[?]

色谱峰：1—磺胺甲基异噁唑；2—磺胺二甲基嘧啶；3—磺胺二甲嘧啶

色谱柱：ChromSpher C_{18}（Chrompack）键合十八烷基硅，20.0 cm×3.0 mm（内径），5 μm

流动相：甲醇-水（体积比=25∶75）

流　速：0.5 mL·min^{-1}

检测器：紫外（254 nm，0.05AUFS）

第四节　环境物质样品色谱图

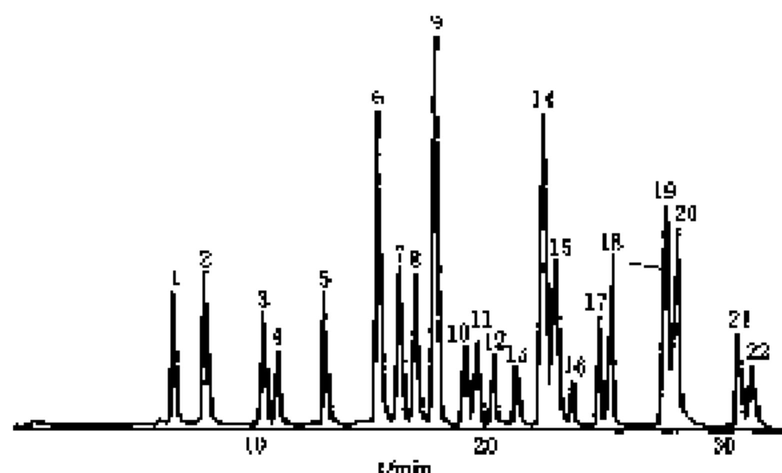


图 10-148　22 种硝化多环芳烃标准样谱图

色谱峰：1—6-NQ；2—5-NQ；3—5-N-6-MQ；4—8-N-7-MQ；5—1,8-DNN；6—1,5-DNN；7—1-NN；8—2-NN；9—3-NB；10—1-N-2-MN；11—2,7-DNF；12—4-NB；13—3-NB；14—2-NF；15—9-NPH；16—9-NA；17—NPH；18—1,6-DNP；19—1-NP；20—4-N-P-T；21—6-NC；22—3-NPer

色谱柱：Alltech ODS，250 mm×2.1 mm（内径）

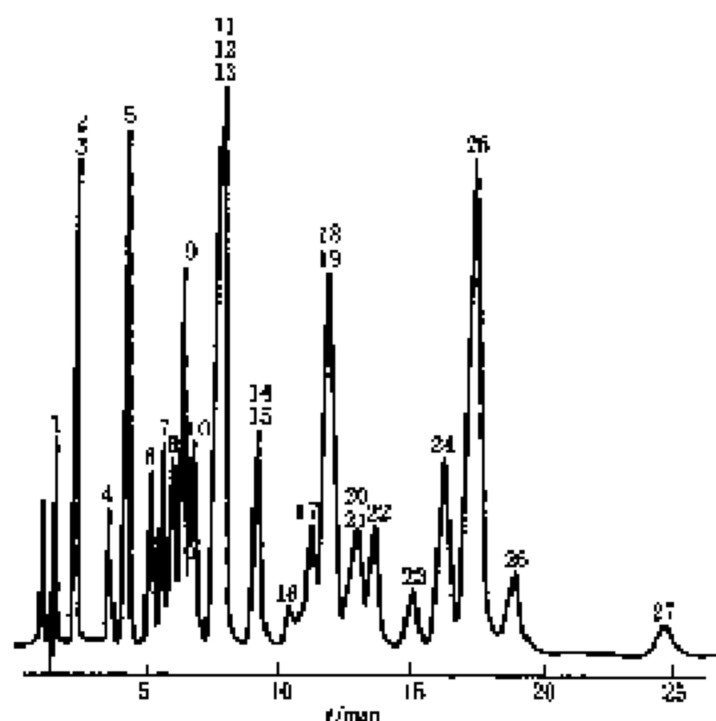
柱　温：35℃

流动相：乙腈+水

线性洗脱：24%乙腈 $\xrightarrow{30\ min}$ 80%乙腈

流　速：1ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—硝基胍；2—2,6-二氨基-4-硝基甲苯；3—八素精；4—对硝基苯胺；5—六素精；6—1,3,5-三硝基苯；7—2-氨基-4-硝基甲苯；8—4-氨基-2-硝基甲苯；9—1,4-二硝基苯；10—2-氨基-6-硝基甲苯；11—2,4-二硝基苯胺；12—1,2-二硝基苯；13—1,3-二硝基苯；14—硝基苯；15—2,4,6-三硝基甲苯；16—2,4,6-三硝基苯甲硝胺；17—4-氨基-2,6-二硝基甲苯；18—2-氨基-4,6-二硝基甲苯；19—苯；20—3,4-二硝基甲苯；21—2,6-二硝基甲苯；22—2,4-二硝基甲苯；23—3,4-二硝基甲苯；24—2-硝基甲苯；25—4-硝基甲苯；26—3-硝基甲苯；27—甲苯

色谱柱：Nucleosil RP 18-5，150 mm×4 mm（内径）

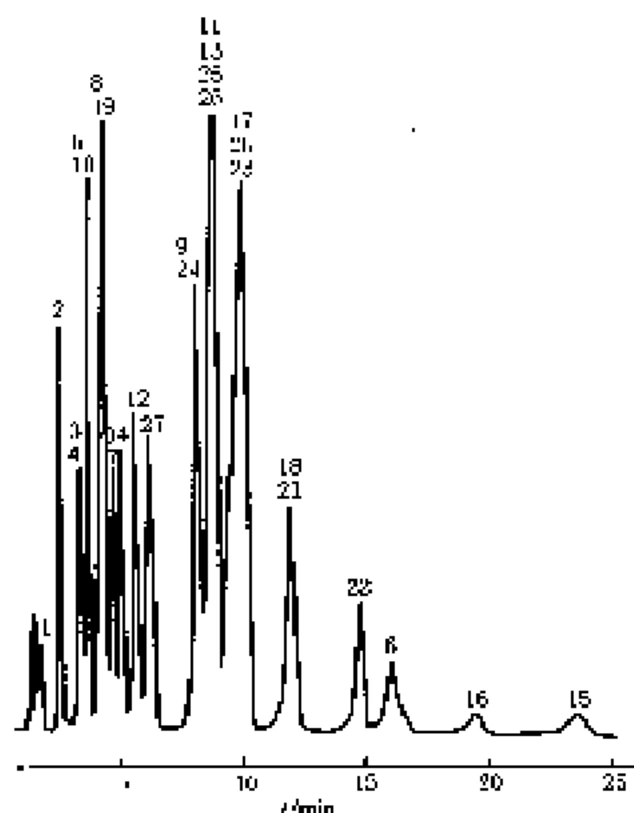
柱　温：室温

流动相：甲醇+水（体积比=45:55）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV

图 10-149　27 种硝基化合物分离谱图（一）



色谱峰：1—硝基胍；2—2,6-二氨基-4-硝基甲苯；3—八素精；4—对硝基苯胺；5—六素精；6—1,3,5-三硝基苯；7—2-氨基-4-硝基甲苯；8—4-氨基-2-硝基甲苯；9—1,4-二硝基苯；10—2-氨基-6-硝基甲苯；11—2,4-二硝基苯胺；12—1,2-二硝基苯；13—1,3-二硝基苯；14—硝基苯；15—2,4,6-三硝基甲苯；16—2,4,6-三硝基苯甲硝胺；17—4-氨基-2,6-二硝基甲苯；18—2-氨基-4,6-二硝基甲苯；19—苯；20—3,5-二硝基甲苯；21—2,6-二硝基甲苯；22—2,4-二硝基甲苯；23—3,4-二硝基甲苯；24—2-硝基甲苯；25—4-硝基甲苯；26—3-硝基甲苯；27—甲苯

色谱柱：Safrole Kromasil，125 mm×4 mm（内径），5 μm

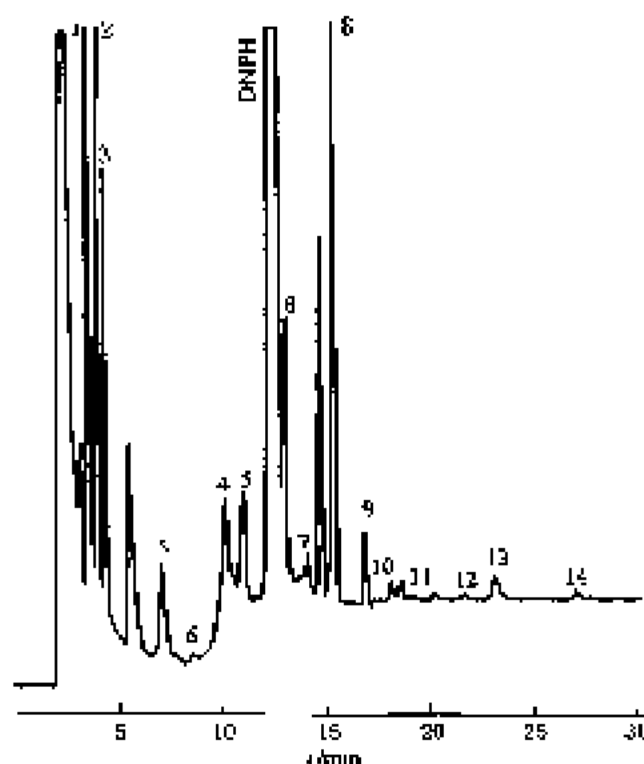
柱　温：室温

流动相：甲醇+水（体积比=50：50）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV

图10-150　27种硝基化合物分离谱图（二）[illegible]



色谱峰：1—草乙酸；2—氧戊二酸；3—二羟乙酸；4—丙酮酸；5—氧丁酸；6—羟基乙醛；7—乙二醛；8—甲醛；9—乙醛；10—丙酮；11—丙醛；12—丁醛；13—苯甲醛；14—环己酮

泵：型号655A-12

色谱柱：50 mm×4 mm RP 18，250 mm×4 mm Nucleosil 120 C_{18}，5 μm

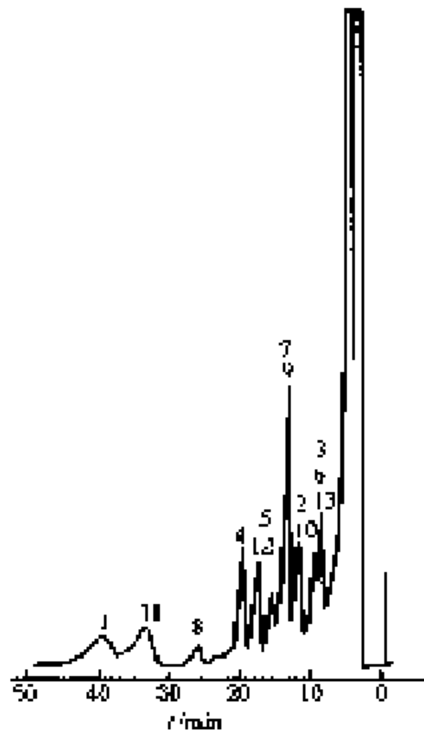
流动相：A　乙腈+甲醇+5 mmol·L^{-1} KH_2PO_4缓冲液（体积比=1：1.4：5）
B　乙腈+5 mmol·L^{-1} KH_2PO_4缓冲液

梯度洗脱：

时间/min	洗脱剂	流速/(ml·min^{-1})
0.0	B	0.6
2.0	B	0.6
10.0	A	1.25
25.0	A	1.25
37.0	B	1.25
37.0	B	0.6

检测器：multi channel photodiode-array detector（380 nm）

图10-151　Elbe港口水样中醛酮分离谱图[illegible]



色谱峰：1—草不绿，2—阿特拉津；3—嗪草平，4—氯苯胺；5—2，6-二甲基苯胺；6—2，4-滴丙酸；7—2，6二甲基苯胺；8—二硝甲酚；9—敌草隆；10—2-甲-4-氯丙酸；11—异丙甲草胺；12—3-硝基苯酚；13—丙嗪三嗪

预柱填料：PLRP-S

分析柱：25 cm PLRP-S

流动相：10 mmol·L⁻¹(CH₃)Cl—磷酸缓冲溶液（pH=3）（体积比=50:50）

检测器：紫外

图 10-152　莱茵河水样品分离谱图[122]

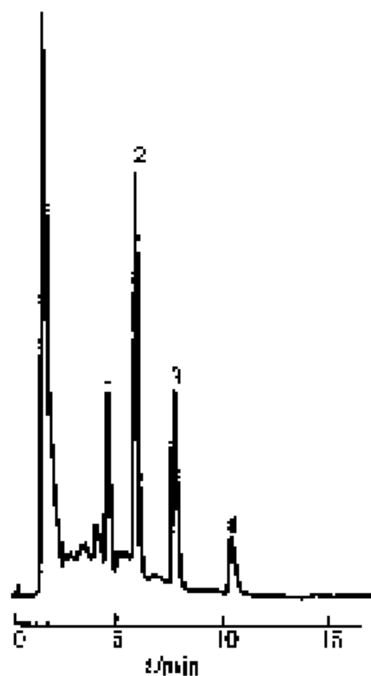


图 10-153　河水中烷基苯磺酸盐谱图[111]

色谱峰：1—C_{10}；2—C_{11}；3—C_{12}；4—C_{13}

色谱柱：Wakosil 5C18，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈+水（50+50）含0.1 mol·L⁻¹ $NaClO_4$

流速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（220 nm）

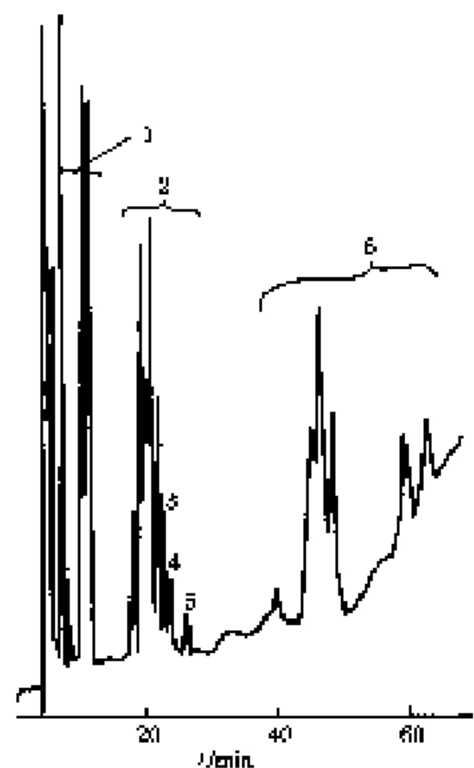


图 10-154　合成PCDD混合物色谱图[123]

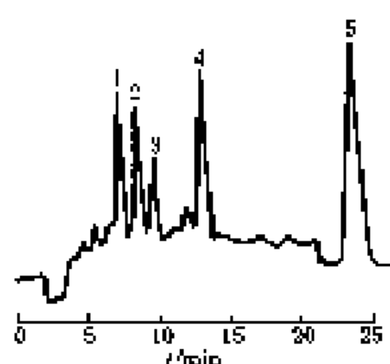
色谱峰：1—二氯联苯对二羟基；2—四氯联苯对二羟基；3—1，2，6，9-四氯联苯对二羟基；4—2，3，7，8-四氯联苯对二羟基；5—1，4，6，9-四氯联苯对二羟基；6—五氯联苯对二羟基

色谱柱：填充PE 5G，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：己烷

流速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：UV（235 nm）



色谱峰：1—1,6-二硝基芘；2—1,8-二硝基芘；3—1,3-二硝基芘；4—2-氟硝基芴（内标物）；5—1-NP

色谱柱：Cosmosil ODS，250 mm×4.6 mm（内径）

柱 温：室温

流动相：10 mmol·L⁻¹咪唑缓冲液（pH7.6）+乙腈（体积比=1:1）

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：TCPO化学发光检测

图10-155 大气飘尘的苯-乙醇萃取物谱图[9]

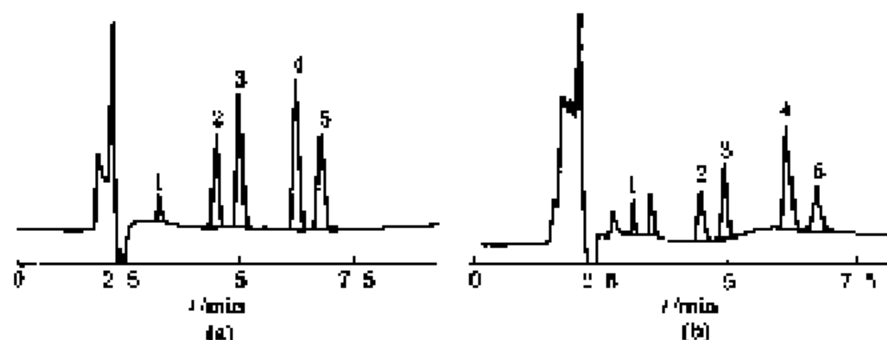


图10-156 大米中农药残留谱图[10]

色谱峰：1—苯酚；2—克百威；3—西维因；4—异丙威；5—甲萘威

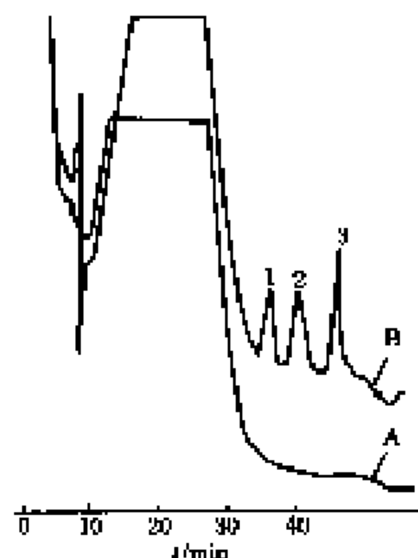
色谱柱：Hypersil ODS，200 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱 温：40℃

流 速：1 ml·min⁻¹

流动相：甲醇+磷酸盐缓冲液（体积比=65:35）

检测器：UV



色谱峰：1—邻苯二酚；2—间苯二酚；3—间苯三酚

预处理柱：PGC，2.7 cm×0.46 cm（内径），7 μm

分析柱：Hypercarb，10 cm×0.46 cm（内径）

流动相：乙腈+0.05高氯酸-高氯酸钠（pH4）

梯度淋洗：

时间/min	φ(乙腈)/%
0~18	5
58	25

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：电化学检测（0.85V，vs Ag/AgCl）

图10-157 饮用水中酚类分析谱图[11]

A—不含酚类；B—含有0.1μg·L⁻¹酚类物质



图 10-158　水果中 2，4-二硝基苯肼的测定谱图（杏汁）[118]

色谱峰：1—DNPH；2—HMF DNPH-1；3—F DNPH-1

色谱柱：Supelcosil LC-18，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈-水（体积比=55∶45），等度冲洗

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（385 nm）

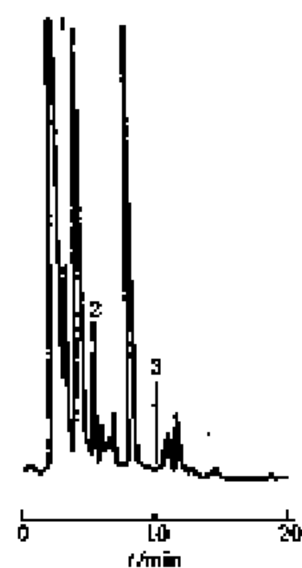


图 10-159　水果中 2，4-二硝基苯肼的测定谱图（苹果汁）[118]

色谱峰：1—DNPH；2—HMF DNPH-1；3—F DNPH-1

色谱柱：Supelcosil LC-18，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈-水（体积比=55∶45），等度冲洗

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（385 nm）

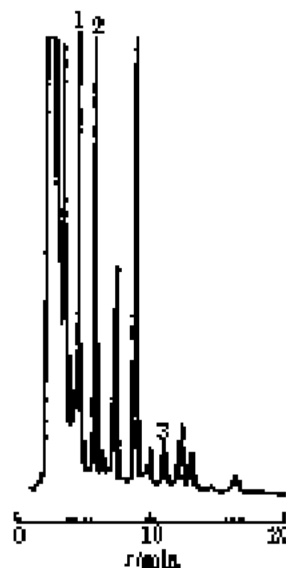


图 10-160　水果中 2，4-二硝基苯肼的测定谱图（桃汁）[118]

色谱峰：1—DNPH；2—HMF DNPH-1；3—F DNPH-1

色谱柱：Supelcosil LC-18，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈-水（体积比=55∶45），等度冲洗

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（385 nm）



图 10-161　水果中 2，4-二硝基苯肼的测定谱图（梨汁）[118]

色谱峰：1—DNPH；2—HMF DNPH-1；3—F DNPH-1

色谱柱：Supelcosil LC-18，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈-水（体积比=55∶45），等度冲洗

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（385 nm）

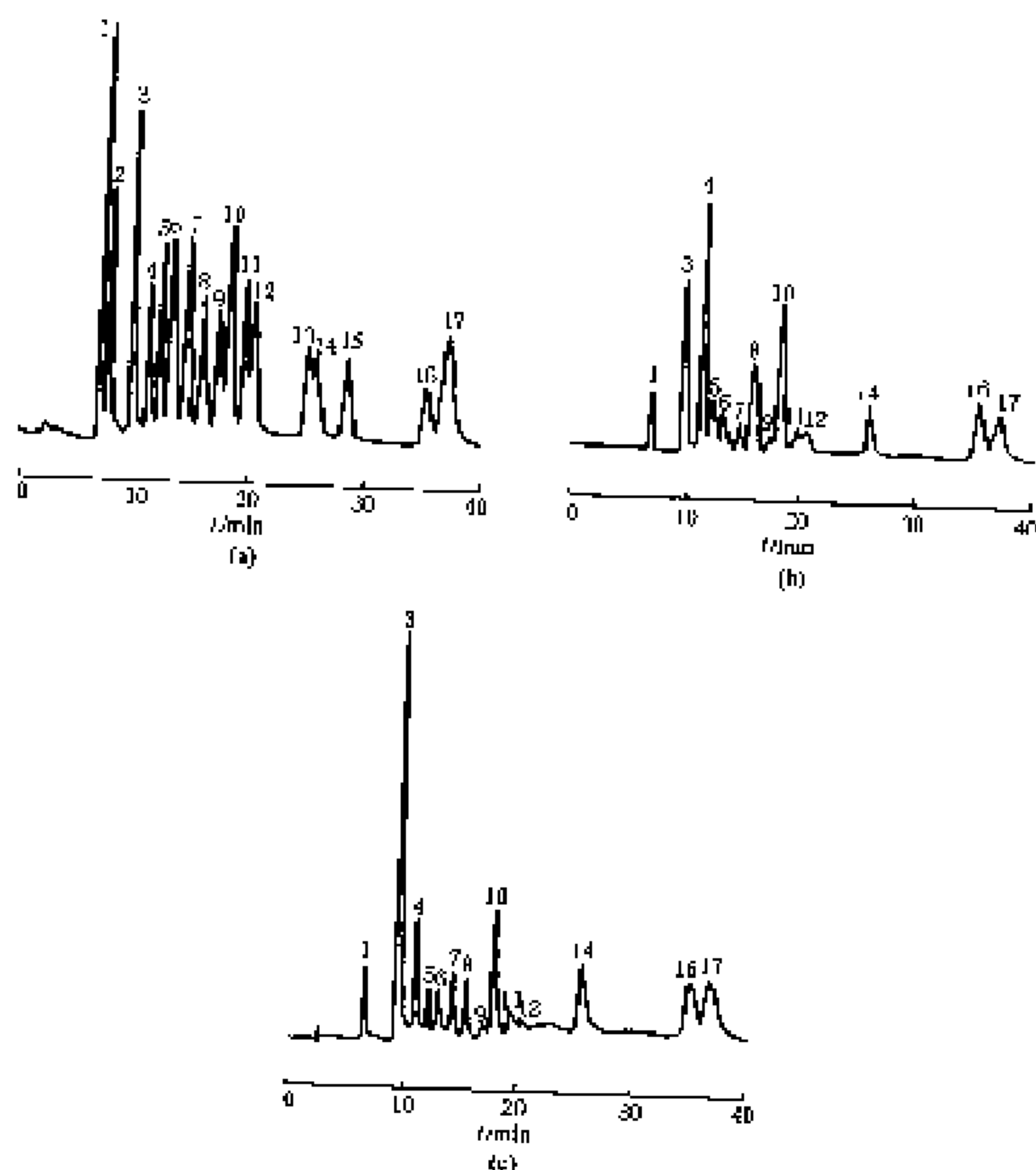


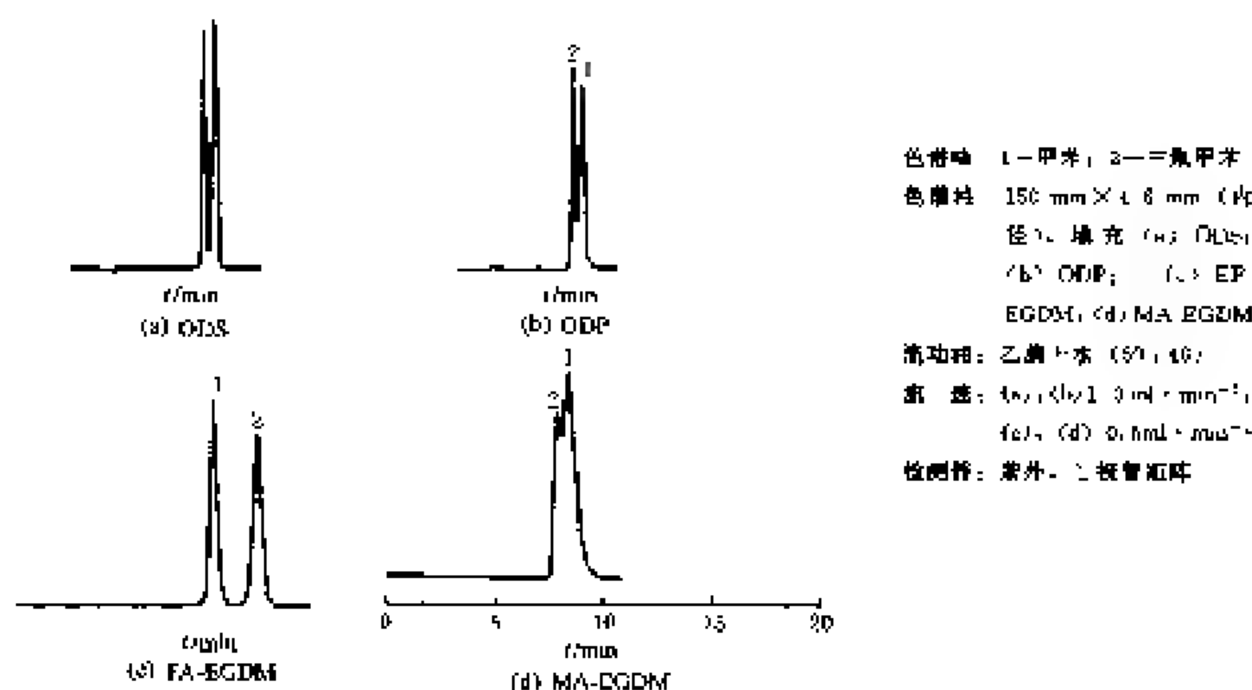
图 10-162　19 种酚（其中 16 种硝基酚）的分离谱图[118]

色谱峰：1—2,6-二硝基苯酚；2—苯酚；3—2,4-二硝基苯酚；4—4-硝基苯酚；5—3-硝基苯酚；6—2,3-二硝基苯酚；7—2,5-二硝基苯酚；8—3,4-二硝基苯酚；9—3-甲基-2-硝基苯酚；10—2-硝基苯酚和3-甲基-4-硝基苯酚；11—4-甲基-3-硝基苯酚；12—2-甲基-3-硝基苯酚；13—2,5-二甲基苯酚；14—4,6-二硝基-2-甲基苯酚；15—2,6-二氯苯酚；16—2,6-二甲基-4-硝基苯酚；17—5-甲基-2-硝基苯酚+4-甲基-2-硝基苯酚

色谱柱：Merck Lichrosorb RP-18，5 μm，250 mm

流动相：甲醇+磷酸盐缓冲液（体积比=40：60）

检测器：(a) UV (220 nm)；(b) UV (317 nm)；(c) UV (359 nm)



色谱峰：1—甲苯；2—三氟甲苯
色谱柱：150 mm×4.6 mm（内径），填充（a）ODS；（b）ODP；（c）FA-EGDM；（d）MA-EGDM
流动相：乙腈-水（60：40）
流 速：（a），（b）1.0 mL·min^{-1}；（c），（d）0.5 mL·min^{-1}
检测器：紫外，二极管阵列

图 10-163　甲苯和三氟甲苯分离谱图

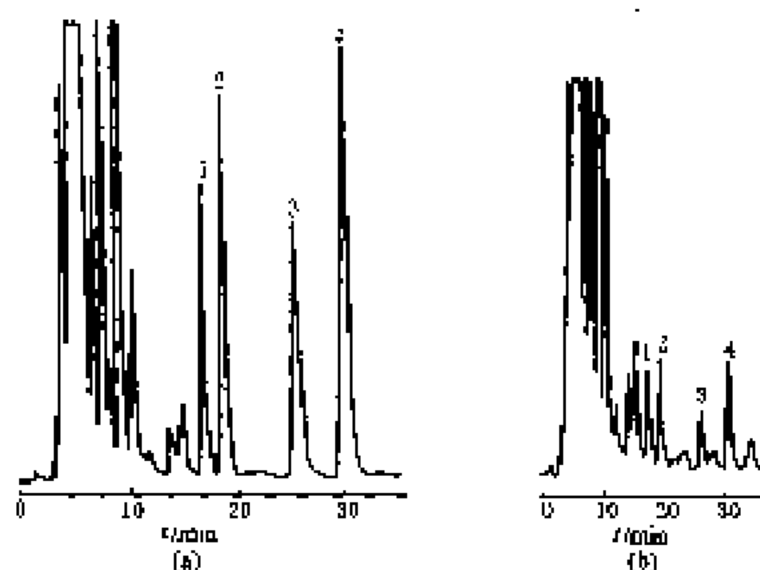


图 10-164　地下水中除草剂的分离谱图[119]

（a）苯氧羧酸除草剂标准样 9-蒽二偶氮甲烷衍生物的分离谱图；
（b）以 9-蒽二偶氮甲烷处理后地下水提取物的 HPLC 谱图
色谱峰：1—(2,4-二氯苯氧)乙酸；2—(4-氯-2-甲基苯氧)乙酸；3—2-(4-氯-2-甲基苯氧)丙酸；4—4-氯-2-甲基苯氧丁酸
色谱柱：TSKgel ODS-120T（C_{18}）（Tosoh），25.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm
流动相：乙腈-水（8：1）含有 3% 四氢呋喃
流 速：1.0 mL·min^{-1}
温 度：室温
检测器：荧光（λ_{ex}=365 nm，λ_{em}=412 nm）

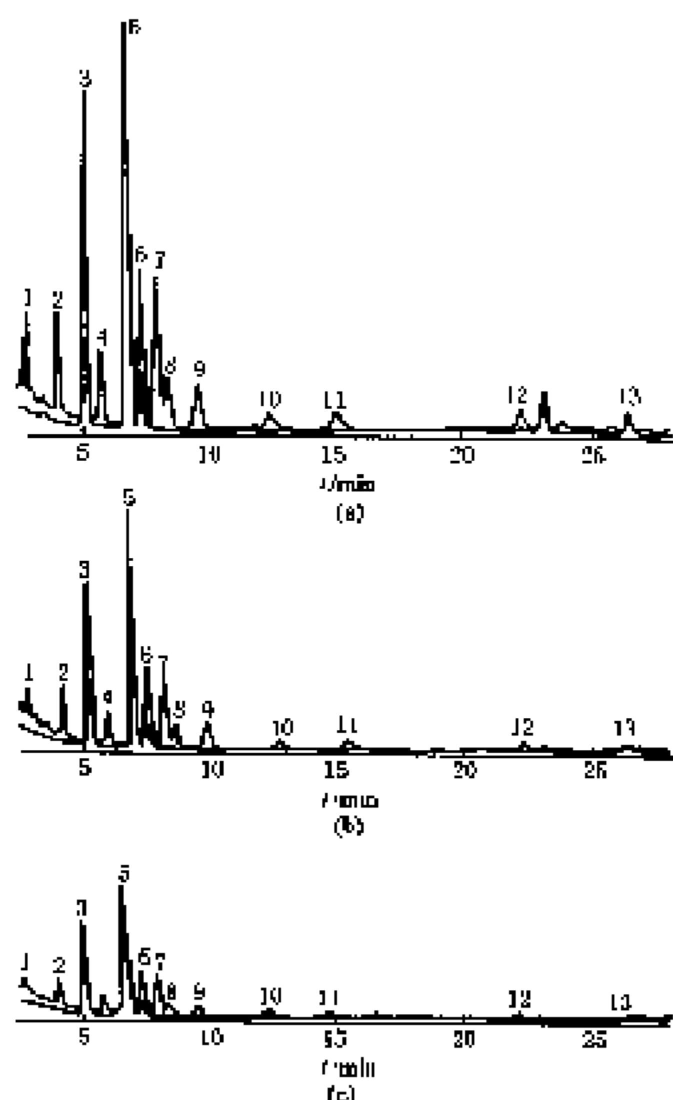


图 10-165　地下水中酚类化合物谱图[119]

色谱峰：1—儿茶酚；2—苯酚；3—4-硝基苯酚；4—4-甲基苯酚；5—2,4-二硝基苯酚；6—2-硝基苯酚；7—4-氯苯酚；8—3-氯苯酚；9—2,4-二甲基苯酚；10—4-氯-3-甲基苯酚；11—2,4-二氯苯酚；12—2,4,6-三氯苯酚；13—五氯苯酚

吸着剂：(a) LiChrolut EN；(b) Isolute ENV+；(c) Porapak RDX

色谱柱：Hypersil Green ENV，150 mm×4.6 mm

柱　温：室温

流动相：乙腈+水+1%乙酸

梯度洗脱：乙腈+水（30∶70）等度洗脱 15 min，然后 100%乙腈冲洗 16 min，再平衡 5 min

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（峰 3 为 280 nm；峰 7 为 310 nm）

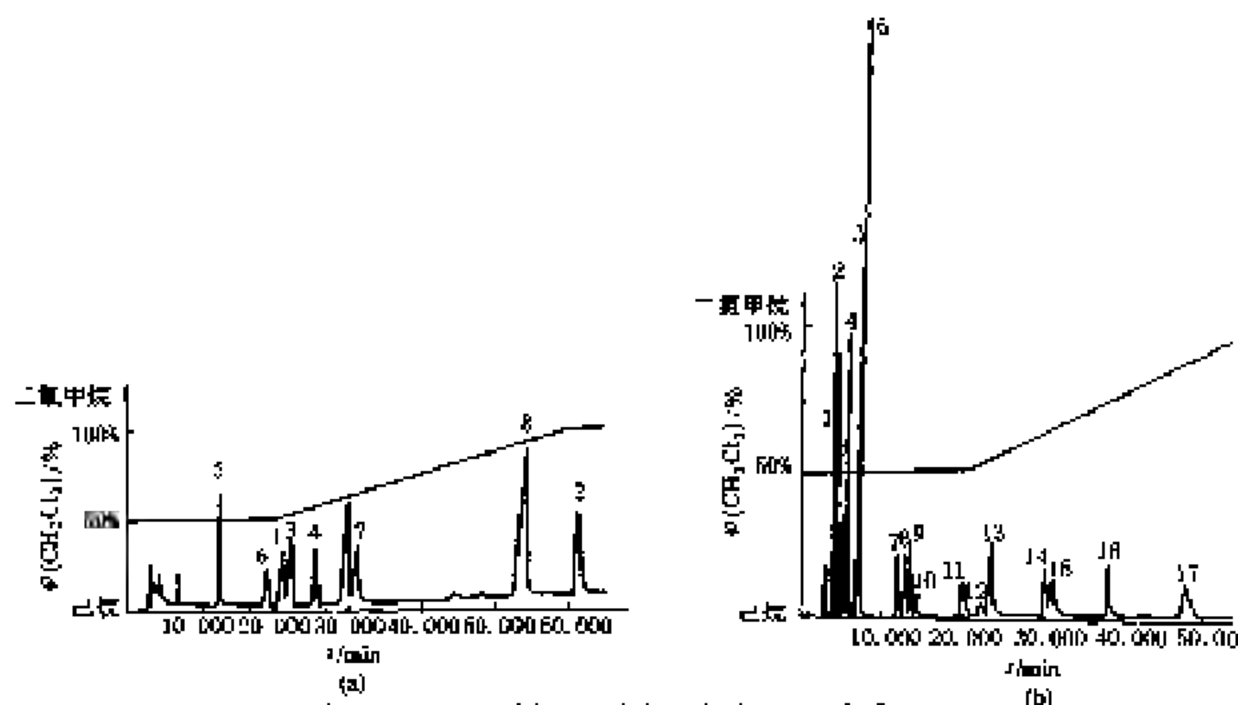


图 10-166　多环芳烃类化合物分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：(a) 1—二苯并[ah]蒽；2—二苯并[ae]芘；3—苯并[b]荧蒽；4—苯并[k]荧蒽；5—苯并[a]芘；6—苯并[j]荧蒽；7—苯并[e]芘；8—茚并[1,2,3-cd]芘

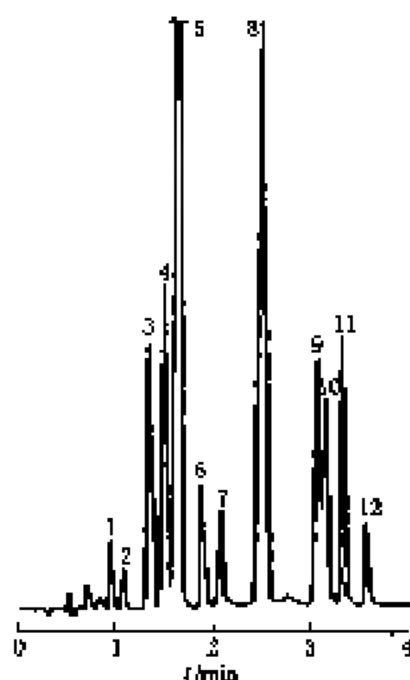
(b) 1—萘；2—苊；3—二氢苊；4—芴；5—菲；6—蒽；7—荧蒽；8—苯并[a]蒽；9、10—芘；11—苯并[k]荧蒽；12—二苯并[ah]蒽；13—苯并[b]荧蒽；14—苯并[a]芘；15—苯并[e]芘；16—苯并[ghi]苝；17—茚并[1,2,3-cd]芘

色谱柱：TCP Kromasil，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：己烷＋二氯甲烷

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—萘；2—苊；3—芴；4—菲；5—蒽；6—荧蒽；7—芘；8—䓛；9—苯并[b]荧蒽；10—苯并[k]荧蒽；11—苯并[a]芘；12—二苯并[a,h]蒽

色谱柱：MICROSORB™ SHORT-ONE C_{18}键合十八烷基硅胶 10 cm×4.6 mm（内径），3 μm

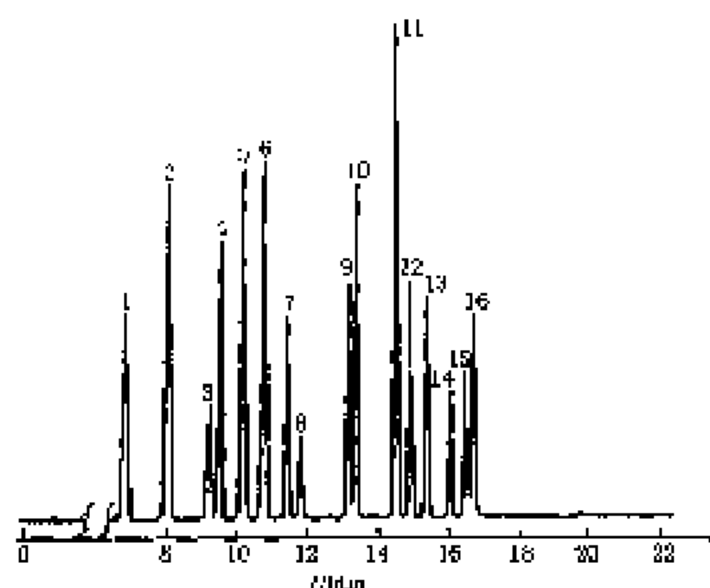
流动相：A 水；B 乙腈

梯度冲洗：25%A＋75%B 1min，25%A＋75%B变至100%B在3 min内，100%B保持1 min，100%B变至25%A＋75%B在1min内

流　速：3.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

图 10-167　多环芳烃类化合物分离谱图（二）[illegible]



色谱峰：
1—萘；2—苊；3—二氢苊；4—芴；5—菲；6—蒽；7—荧蒽；8—芘；9—苯并[a]蒽；10，11—苯并[b]荧蒽；12—苯并[k]荧蒽；13—苯并[a]芘；14—二苯并[a，h]蒽；15—苯并[g，h，i]芘；16—茚并[1,2,3-cd]芘

图 10-168　多环芳烃化合物分离谱图(三)[illegible]

色谱柱：SUPELCOSIL LC-PAH (Supelco) 键合十八烷基硅，15 cm×4.6 mm（内径），5 μm

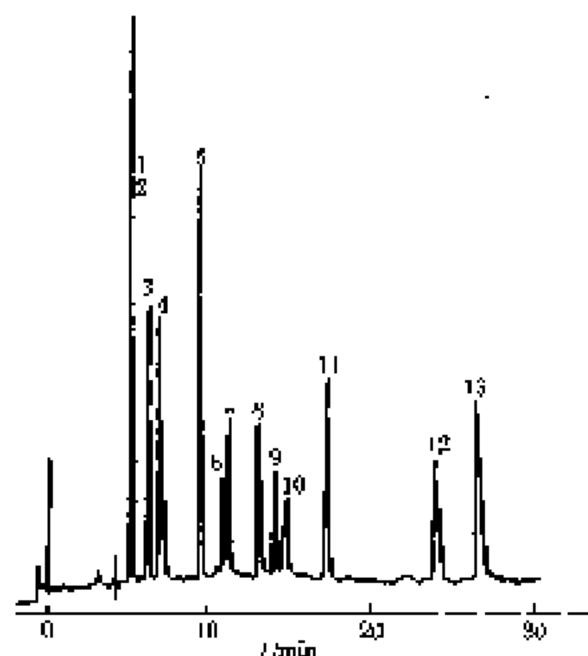
流动相：A 水；B 乙腈

梯度冲洗：65%A—35%B 2 min，65%A+35%B 变至 100%（14 min 内）

流　速：2 ml·min^{-1}

色谱柱温：35℃

检测器：UV (250 nm)



色谱峰：1—硝基苯胺，2—苯胺；3—乙酰苯胺；4—硝基苯；5—苯腈；6—甲苯；7—溴苯；8—萘；9—[illegible]；10—二甲苯；11—联苯；12—菲；13—[illegible]

色谱柱：Isco C_{18}，键合十八烷基硅，25.0 cm×1 mm（内径），3 μm

流动相：甲醇＋水（80＋20）

流　速：25 ml·min^{-1}

温　度：室温

进样体积：0.1 μl

检测器：UV(254 nm)

图 10-169　多环芳烃化合物分离谱图(四)[illegible]

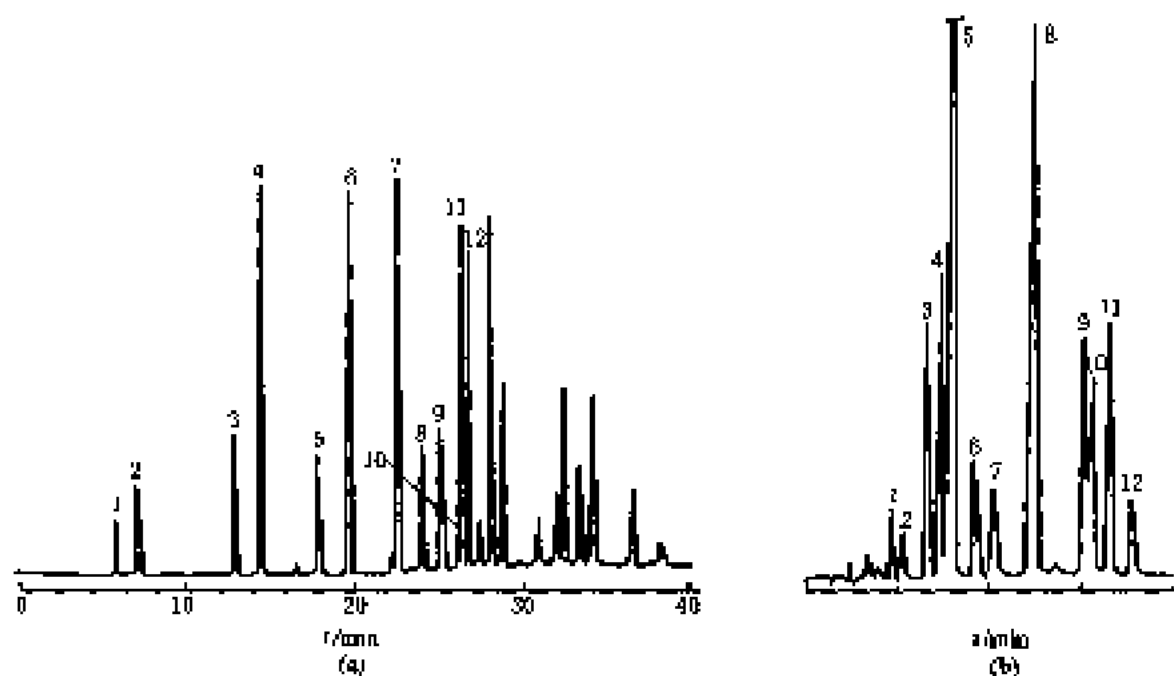


图 10-170　多环芳烃化合物分离谱图(五)[184]

色谱峰：1—萘；2—苊；3—芴；4—菲；5—蒽；6—荧蒽；7—芘；8，9—苯并[b]荧蒽；10—苯并[k]荧蒽；11—苯并[a]芘；12—二苯[a，h]蒽

色谱柱：Microsorb 键合十八烷基硅烷，10 cm×4.6 mm，3 μm

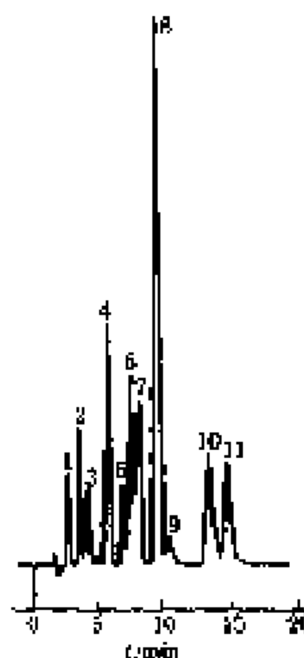
流动相：A 水；B 乙腈

梯度冲洗：25%A $\xrightarrow{1\ min}$ 25%A $\xrightarrow{11.4\ min}$ 0%A

流　速：3.0 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—苯；2—萘；3—联苯；4—蒽；5—荧蒽；6—芘；7—杂质；8，9—杂质；10—苯并[e]芘；11—苯并[a]芘

色谱柱：DuPont Zorbax ODS 键合十八烷基硅烷，150 cm×4.6 mm（内径），15 μm

流动相：甲醇+水（85+15），等度冲洗

流　速：1 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV(254 nm)

图 10-171　多环芳烃化合物分离谱图（六）[184]

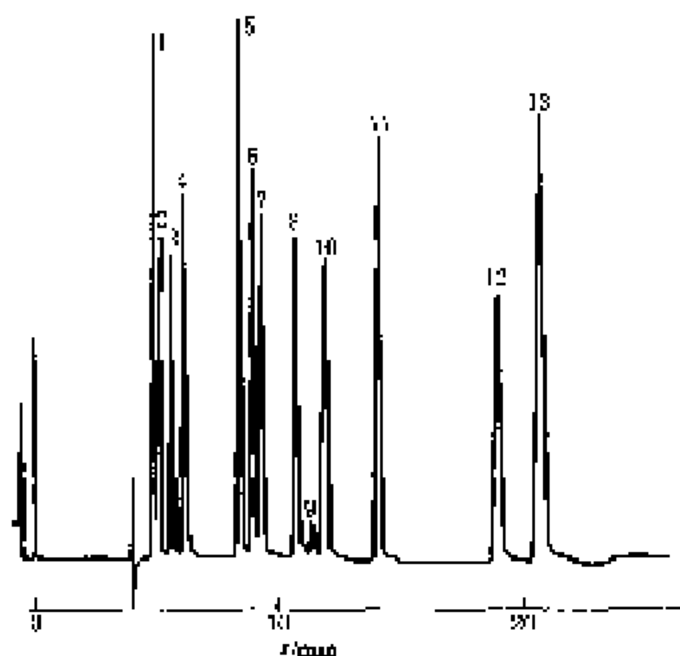


图 10-172　多环芳烃化合物分离谱图(七)[133]

色谱峰：1—硝基苯胺；2—苯酚；3—乙酰苯胺；4—硝基苯；5—苯酮；6—甲苯；7—溴苯；8—萘；9—杂质；10—二甲苯；11—联苯；12—菲；13—蒽

色谱柱：Isco C_{18}，键合十八烷基硅，300 cm×0.5 mm（内径），3 μm

流动相：甲醇—水（80+20）　　进样体积：0.1 μl

流　速：10 μl·min^{-1}　　检测器：UV（254 nm）

柱　温：室温

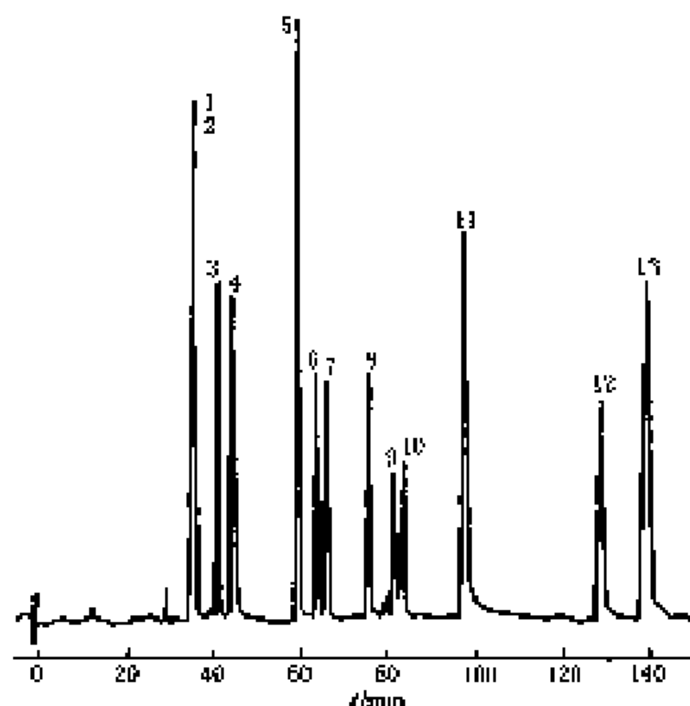


图 10-173　多环芳烃化合物分离谱图(八)[134]

色谱峰：1—硝基苯胺；2—苯酚；3—乙酰苯胺；4—硝基苯；5—苯酮；6—甲苯；7—溴苯；8—萘；9—杂质；10—二甲苯；11—联苯；12—菲；13—蒽

色谱柱：Isco C_{18}，键合十八烷基硅，100 cm×0.2 mm（内径），3 μm

流动相：甲醇+水（80+20）　　柱　温：室温

流　速：2 ml·min^{-1}　　检测器：UV（254 nm）

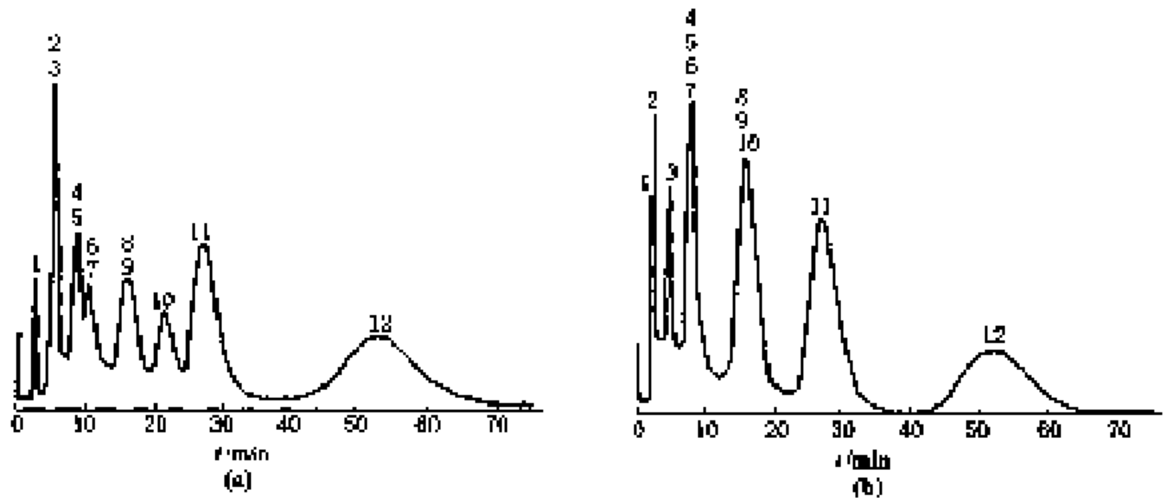


图 10-174 多环芳烃类化合物分离谱图（九）[illegible]

色谱峰：1—萘；2—1-甲基萘；3—2-甲基萘；4—芴；5—1-乙基萘；6—菲；7—2-乙基萘；8—1-甲基菲；9—9-甲基蒽；10—2-甲基蒽；11—9,10-二甲基蒽；12—9-苯基蒽

色谱柱：填充 Altex Ultrasphere ODS（Beckman），45 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) 乙腈+水（40+60）；(b) 10 mmol·L^{-1} β-CD

检测器：UV（254 nm）

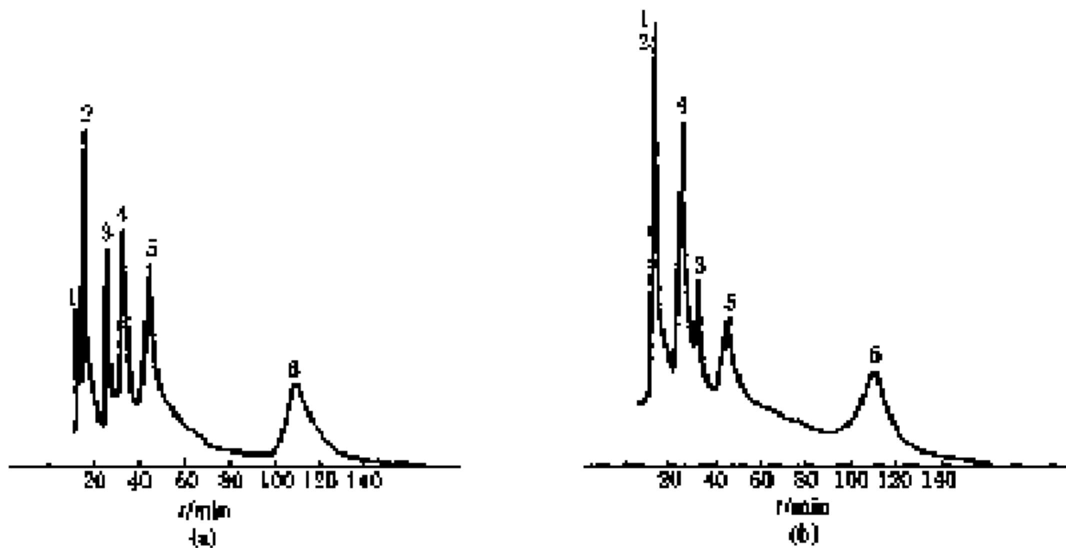


图 10-175 多环芳烃类化合物分离谱图（十）[illegible]

色谱峰：1—苯；2—萘；3—2-甲基萘；4—2-甲基蒽；5—9,10-二甲基蒽；6—9-苯基蒽

色谱柱：填充 Altex Ultrasphere ODS，45 mm×4.6 mm（内径）

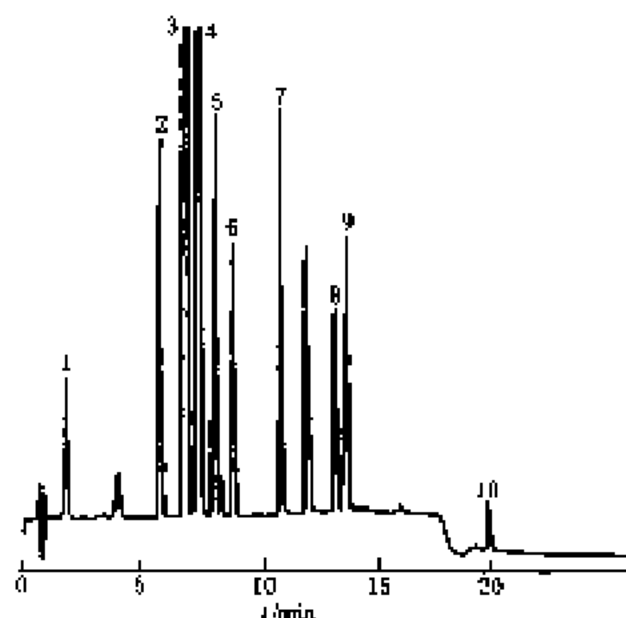
流动相：φ—50%甲醇+水

(a) 无 β-环糊精；

(b) 4 mmol·L^{-1} β-环糊精

柱　温：40℃

检测器：UV/vis（254 nm）0.08AUFS



色谱峰：1—苯；2—萘；3—荧蒽；4—芘；5—䓛；6—苯并[mno]荧蒽；7—苯并[e]芘；8—1,2,3,4-二苯蒽；9—苯并[ghi]荧蒽；10—十环烯

色谱柱：Du Pont Zorbax® ODS 键合十八烷基硅，250 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A—水；B—甲醇；C—乙腈；D—二氯甲烷

梯度冲洗：20%A+80%B变化至100%B（10 min内），100%B变化至95%B+5%C（5 min内），95%B+5%C变化至50%C+50%D（12 min内）

流　速：2.0 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV（254 nm）

图 10-176　多环芳烃类化合物分离谱图（十一）[illegible]

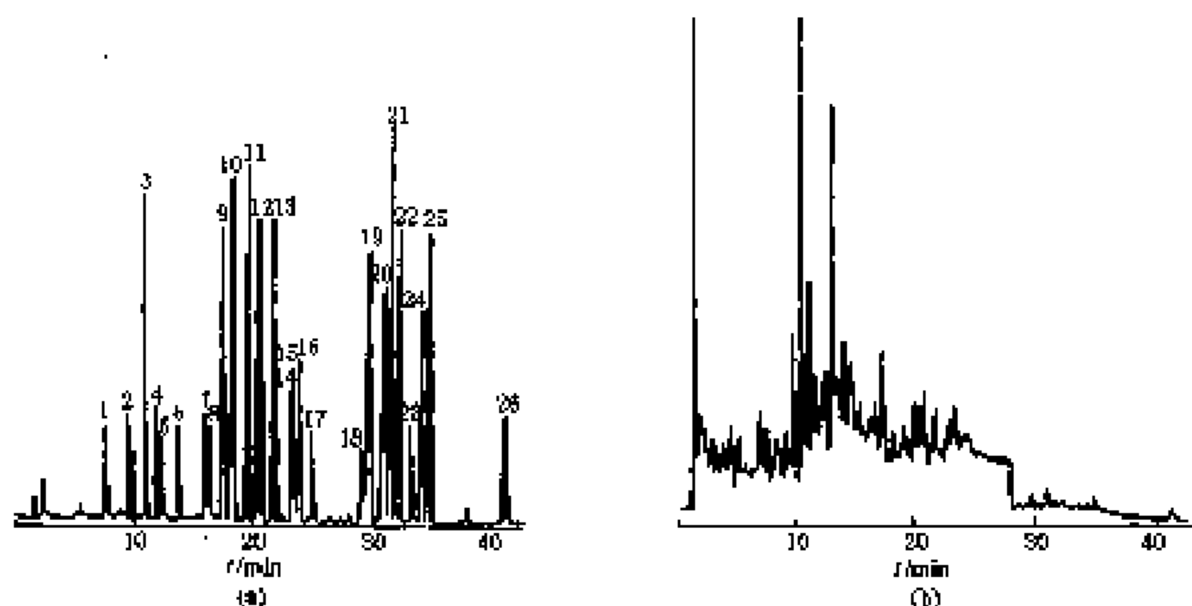


图 10-177　多环芳烃类化合物分离谱图（十二）[illegible]

（a）多环芳烃标准分离谱图；（b）汽车尾气中多环芳烃的分离谱图

色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—咔唑；4,5—萘；6—苊；7—二氢苊；8—芴；9—菲；10—蒽；11—4,5-亚甲基菲；12—荧蒽；13—芘；14—苯并[b]芴；15—9,10-二甲基蒽；16—苯并[9,10]菲；17,18—苯并[b]荧蒽；19—苯并[k]荧蒽；20—苯并[a]芘；21—二苯并[a,c]蒽；22—二苯并[a,h]蒽；23—红荧烯；24—茚并[1,2,3-cd]芘；25—苯并[g,h,i]苝；26—晕苯

色谱柱：Chromsil PAH，25.0 cm×4.6 mm（内径），4 μm

流动相：A 乙腈；B 甲醇；C 水

线性梯度冲洗：A+B+C 10+50+40 $\xrightarrow{0.7\ \mathrm{min}}$ 10+50+40 $\xrightarrow{16.3\ \mathrm{min}}$ 20+60+20 $\xrightarrow{14.0\ \mathrm{min}}$ 30+60+10 $\xrightarrow{7.5\ \mathrm{min}}$ 100%A $\xrightarrow{12.7\ \mathrm{min}}$ 100%A

检测器：UV（254 nm 0~28 min，390 nm 28~43 min）

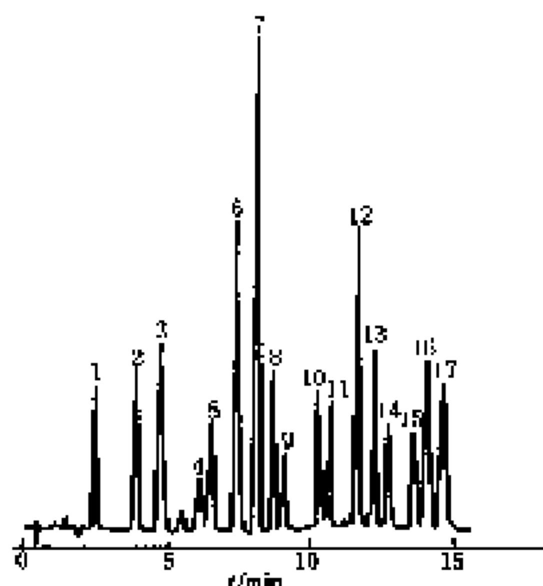


图 10-178　多环芳烃类化合物分离谱图（十三）[107]

色谱峰：1—苯；2—萘；3—苊；4—二氢苊；5—芴；6—菲；7—蒽；8—荧蒽；9—芘；10—苯[a]并蒽；11，12—苯并[b]荧蒽；13—苯并[k]荧蒽；14—苯[a]芘；15—二苯[a，h]蒽；16—苯并[g，h，i]苝；17—茚并[1，2，3-cd]芘

色谱柱：VYDAC 201 TP5415 键合十八烷基硅胶，15 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 水，B 乙腈

线性梯度冲洗：50%A+50%B 3 min，50%A+50%B 升至 100%B 7 min

流　速：1.5 ml·min⁻¹　　　柱　温：室温　　　检测器：UV（254 nm）

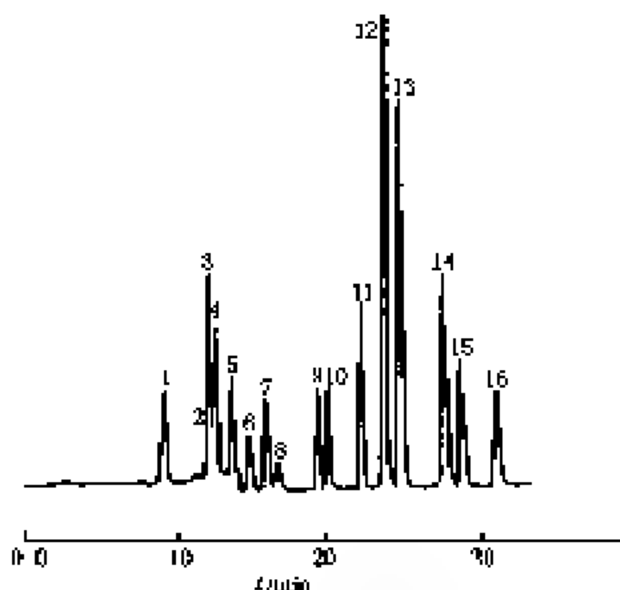


图 10-179　多环芳烃的标准混和物谱图

色谱峰：1—萘，2—苊，3—二氢苊，4—芴，5—菲，6—蒽，7—荧蒽，8—芘，9—苯并[a]蒽，10—䓛，11—苯并[b]荧蒽；12—苯并[k]荧蒽；13—苯并[a]芘；14—二苯并[a，h]蒽；15—苯[ghi]苝；16—茚并[1,2,3-cd]芘

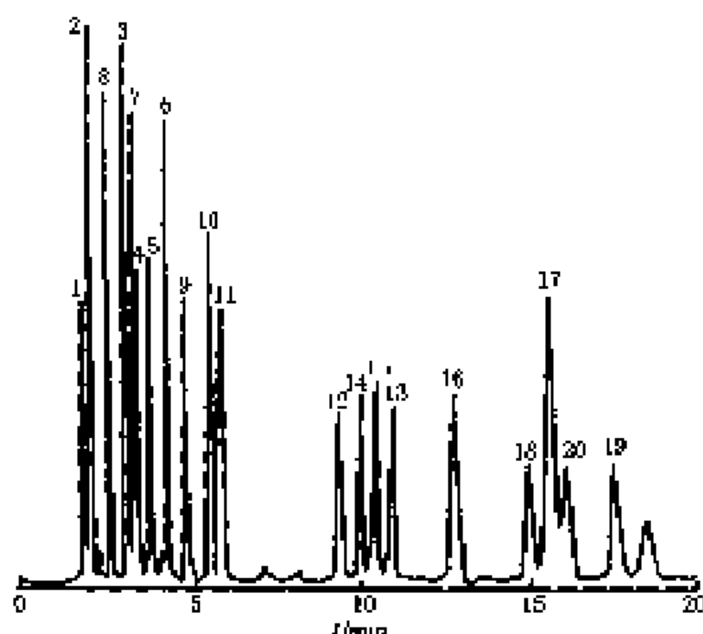
色谱柱：填充 VYDAC 201TP，250 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈＋水

梯度冲洗：

时间/min	φ(乙腈)/%	时间/min	φ(乙腈)/%
0	50	20	100
5	50	35	100

检测器：荧光检测器



色谱峰：1—CYS；2—ASP；3—ASN；4—SER；5—THR；6—GLY；7—GLN；8—GLU；9—HIS；10—ALA；11—TYR；12—ARG；13—PRO；14—MET；15—VAL；16—TRP；17—LYS；18—PHE；19—LEU；20—ILE

色谱柱：Ultrasphere (Beckman) 键合辛烷基硅胶，250 mm×4.6 mm，5 μm

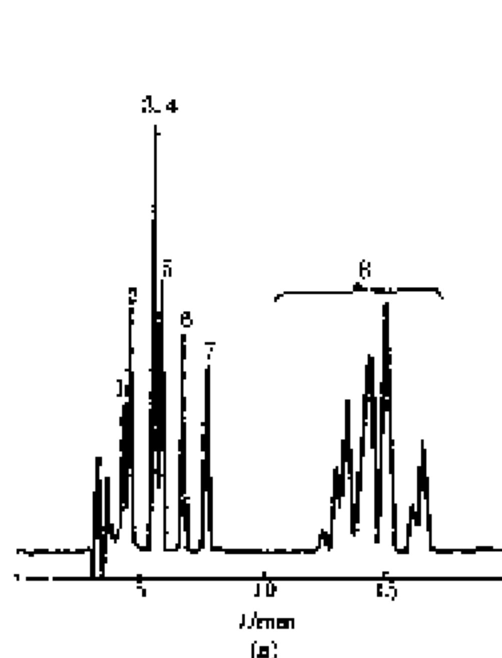
流动相：0.012 mol·L^{-1} 乙酸钠 (pH4.5 至 4.6) (62%) + 乙腈 (38%)

流　速：1.0 mL·min^{-1}

柱　温：35°C

检测器：UV (269 nm)

图 10-180　多环芳烃等度分析谱图[illegible]



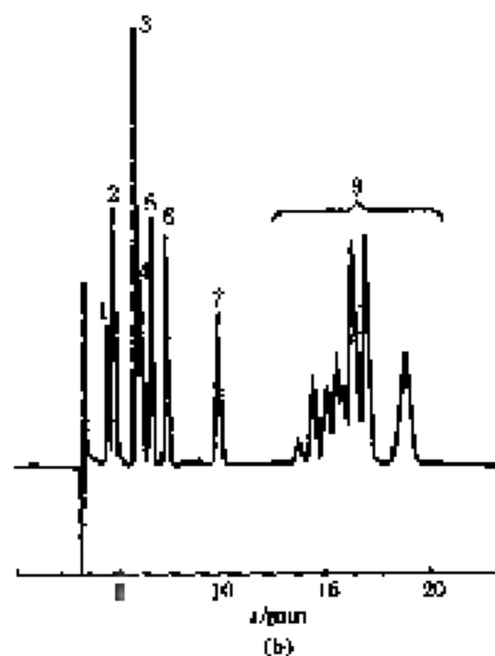


图 10-181　有机氯杀虫剂和五氯联二苯中 TCDD 同分异构体分离谱图[illegible]

色谱峰：1—o,p'-DDE；2—p,p'-DDE；3—多氯联苯-118；4—p,p'-DDT；5—o,p'-DDD；6—多氯联苯-187；7—p,p'-DDD；8—四氯联苯对二噁英部分

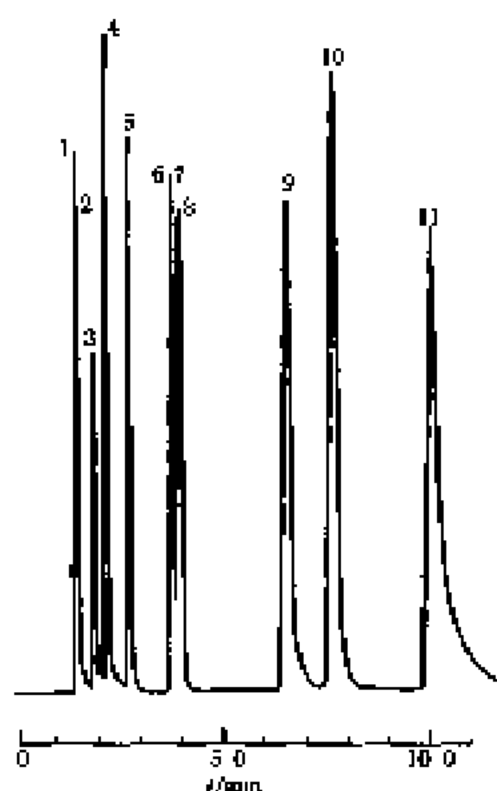
色谱柱：PK-5G，250 mm×4.6 mm 内径

柱　温：25°C

流动相：(a) 己烷-甲醇 (95+5)；(b) 己烷

检测器：UV (235 nm)

流　速：1 mL·min^{-1}



色谱峰：1—$(C_4H_9)_4Sn$；2—$(CH_3)_4Sn$；3—$(C_3H_7)_4Sn$；4—$(C_2H_5)_4Sn$；5—$(C_4H_9)_3SnCl$；6—$(C_2H_5)_3SnCl$；7—$(CH_3)_3SnCl$；8—$(n\text{-}C_3H_7)_2SnCl_2$；9—$(C_4H_9)_2SnCl_2$；10—$(C_2H_5)_2SnCl_2$；11—$(CH_3)_2SnCl_2$

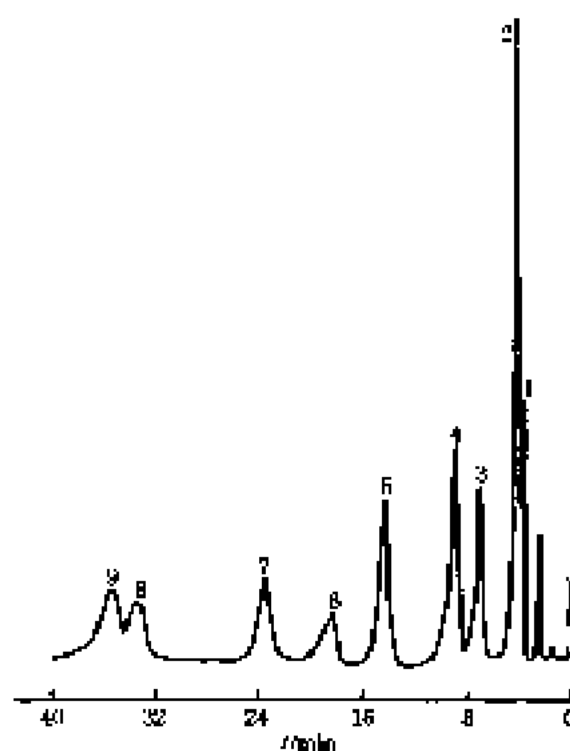
色谱柱：Rosil CN（Bio Rad RSL N.V）用 HCl 预处理，0.46 cm×15 cm，3 μm

流动相：己烷＋四氢呋喃＋乙腈（体积比 90：6：4）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（220 nm）

图 10-182　有机锡化合物分离谱图[184]



色谱峰：1—对氨基苯酚；2—间苯二胺；3—邻苯二胺；4—对苯二胺；5—苯胺；6—对甲氧基苯胺；7—对硝基苯胺；8—邻甲氧基苯胺；9—邻甲苯胺

色谱柱：Lichrosorb RP-18 柱，250 mm×4 mm（内径），7 μm

流动相：甲醇＋磷酸盐缓冲液（pH＝7）（体积比＝16：84）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（222 nm）

图 10-183　芳香胺标准品混合物分离谱图[210]



图 10-184　杀虫剂混合物标样分离谱图[179]

色谱峰：1—狄氏剂；2—七氯；3—滴滴涕；4—艾氏剂

色谱柱：Spherisorb ODS，250 mm×4.6 mm，连接 10 μm ODS 预处理柱

流动相：甲醇+水（80—20）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：紫外（220 nm）

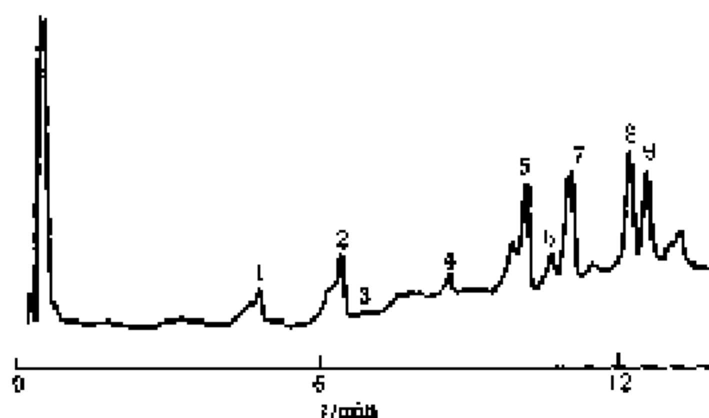
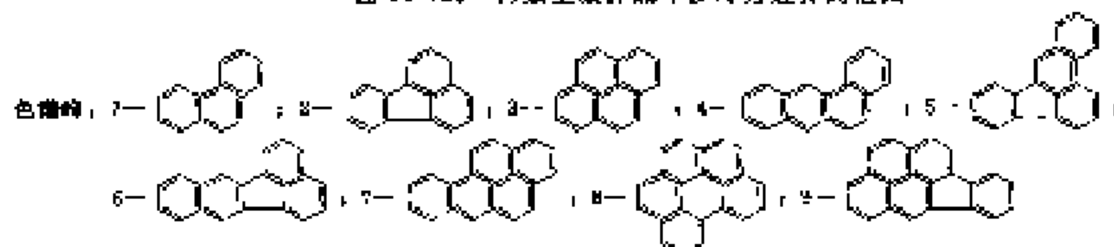


图 10-185　污染土壤样品中多环芳烃分离谱图[180]



色谱峰：1—；2—；3—；4—；5—；6—；7—；8—；9—

色谱柱：填充 Perkin Elmer HS/3 HCODS，125 mm×4.6 mm（内径）

流动相：50%乙腈 $\xrightarrow{1\ min}$ 50%乙腈 ⟶ 100%乙腈 $\xrightarrow{3\ min}$ 100%乙腈

流　速：2.5 ml·min^{-1}　　　　检测器：UV（280 nm）

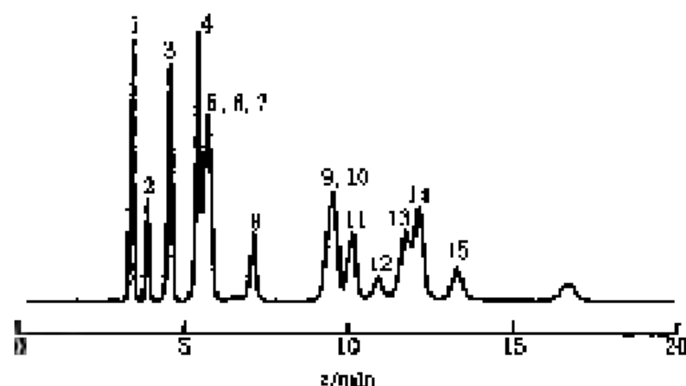


图 10-186 污染物——多环芳烃混合物等度分离谱图[illegible]

色谱峰：1—萘；2—二氢苊；3—芴；4—菲；5~7—蒽、芘、荧蒽；8—荧蒽；9,10—䓛、1,2-苯蒽；11—苯并[a]—芘；12—苯并[e]芘；13—苯并[k]荧蒽；14—苯并芘；15—茚并芘

色谱柱：LiChroCART LiChrospher 硅 60，长 125 mm，5 μm

流动相：异辛烷

流　速：0.5 mL·min^{-1}

检测器：UV (254 nm)

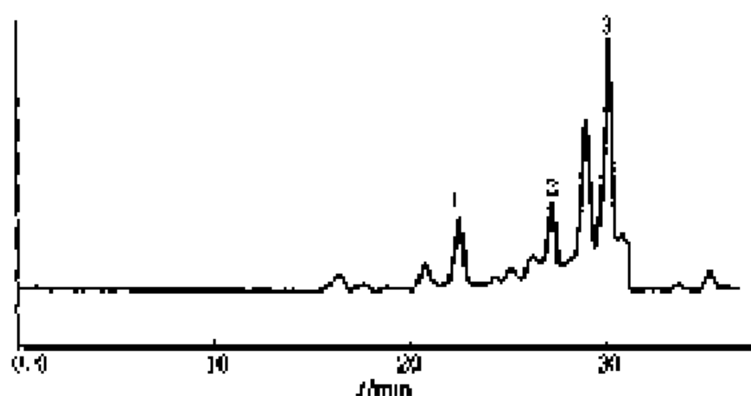


图 10-187 污染沉积物中多环芳烃分离谱图[illegible]

色谱峰：1—苯并[a]蒽；2—苯并[k]荧蒽；3—苯并[a]芘；4—茚并[1,2,3-cd]芘

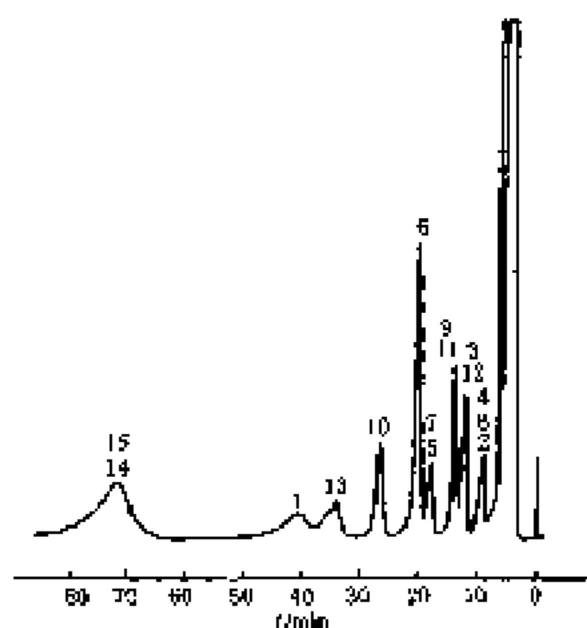
色谱柱：填充 VYDAC 201TP，250 mm×4.6 mm (内径)，10 μm

流动相：乙腈+水

梯度洗脱：0~7 min 50%乙腈水溶液，7~30 min 50%~100%乙腈水溶液，30~50 min 100%乙腈

荧光检测：

时间/min	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm
0	290	340
14	290	420
30	290	500



色谱峰：

1—苯甲醇；2—四氯二噁；3—阿特拉津；4—西草平；5—硝基苯酚；6—氯苯胺；7—2,6-二甲基苯胺；8—2,4-滴丙酸；9—2,6-二甲基苯胺；10—二硝甲酚；11—硝苯胺；12—2-甲-4-氯丙酸；13—异丙甲草胺；14—五氯苯酚；15—2,4,5-三氯苯酚

预柱：PLRP-S

分析柱：25 cm PLRP-S

流动相：CH_3CN + 10 mmol·L^{-1} 磷酸盐缓冲溶液（pH8）（体积比＝20∶80）

检测器：紫外（230 nm）

图 10-188　自来水中 15 种取代芳烃类物的分析谱图

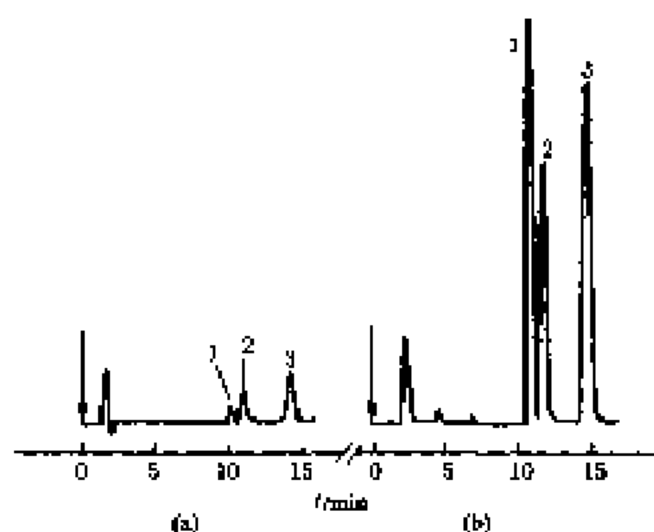


图 10-189　呋喃丹、西维因等分离谱图（一）

(a) 无柱后衍生化；(b) 有柱后衍生化

色谱峰：1—残杀威；2—CBF；3—CYL

色谱柱：Ultrabase C_{18}

流动相：水＋乙腈（体积比＝75∶25）

检测器：UV-Vis（400 nm）

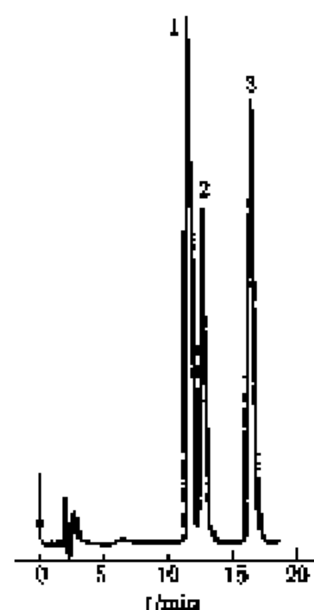


图 10-190　呋喃丹、西维因等分离谱图（二）

色谱峰：1—残杀威；2—呋喃丹；3—西维因

色谱柱：Ultrabase-C_{18}

流动相：H_2O＋乙腈（体积比＝70∶30）

流　速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：UV-Vis（400 nm）



图 10-191 芳香砷类化合物谱图

色谱峰：1—对氨苯基胂酸；2—3-硝基-4-羟基苯胂酸；3—4-硝基苯胂酸

色谱柱：C_{18} Spheri 5 RP 18，100 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：水+0.1%TFA-甲醇（体积比=85：15）

流 速：80 μl·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



图 10-192 空气样品中醛酮分析谱图[196]

色谱峰：1—甲醛；2—乙醛；3—丙酮；4—苯甲醛；5—甲苯甲醛

色谱柱：填充 Hypersil ODS C_{18}硅胶，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈+水（体积比=40：60）

流 速：0.5 ml·min^{-1}

进样阀：型号 7125

检测器：二极管阵列检测器（HP 1040A），荧光检测器（FS 970，Kratos）

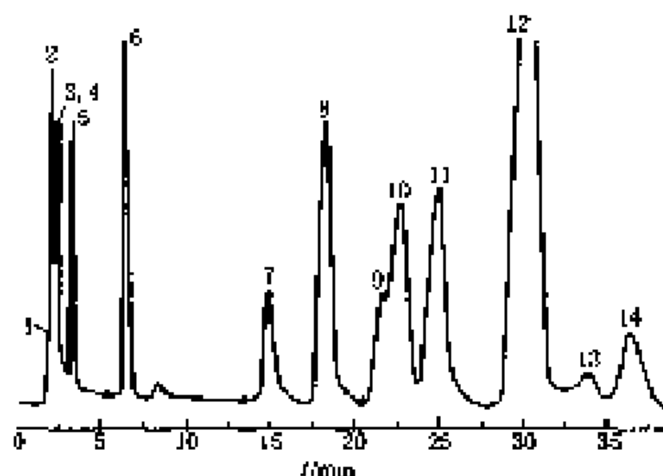


图 10-193 苯并[a]芘的14种代谢物谱图（一）[133]

色谱峰：1—苯并[a]芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；2—苯并[a]芘-r-7,t-8,c-9,t-10-四羟呋喃；3—苯并[a]芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；4—苯并[a]芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；5—苯并[a]芘-反-7,10-四羟呋喃；6—苯并[a]芘-反-7,8-四羟呋喃；7—苯并[a]芘-1,6-二酮；8—苯并[a]芘-3,6-二酮；9—12-羟基苯并[a]芘；10—9-羟基苯并[a]芘；11—2-羟基苯并[a]芘；12—7-羟基苯并[a]芘；13—3-羟基苯并[a]芘；14—6-羟基苯并[a]芘

色谱柱：填充 becker-Bond C_{18}载体，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：甲醇+乙腈+水（体积比=17：50：33）

检测器：UV（254 nm）

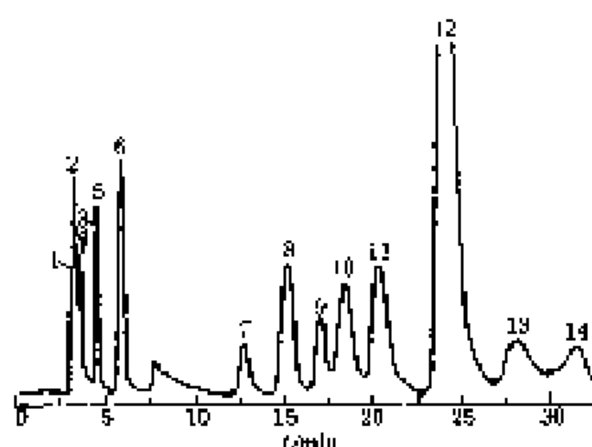


图 10-194 苯并 [a] 芘的 14 种代谢物谱图（二）[192]

色谱峰：1—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；2—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,c-9,t-10-四羟呋喃；3—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；4—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；5—苯并 [a] 芘-反-7,10-四羟呋喃；6—苯并 [a] 芘-反-7,8-四羟呋喃；7—苯并 [a] 芘-1,6-二酮；8—苯并 [a] 芘-3,6-二酮；9—12-羟基苯并 [a] 芘；10—9-羟基苯并 [a] 芘；11—2-羟基苯并 [a] 芘；12—7-羟基苯并 [a] 芘；13—3-羟基苯并 [a] 芘；14—6-羟基苯并 [a] 芘

色谱柱：填充 bakcer-Bond C_{18} 载体，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈+水（体积比=65∶35）

检测器：UV（254 nm）

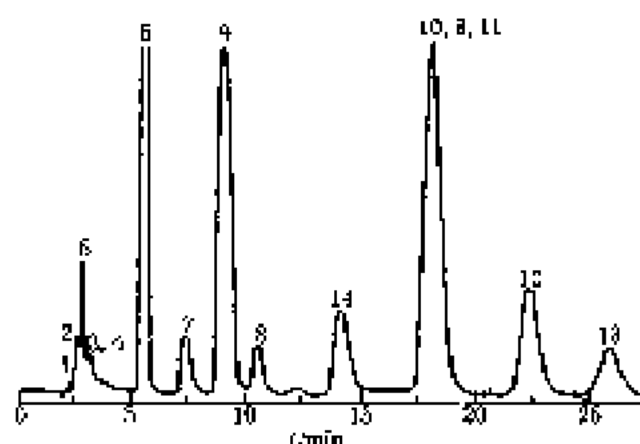


图 10-195 苯并 [a] 芘的 14 种代谢物谱图（三）[193]

色谱峰：1—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；2—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,c-9,t-10-四羟呋喃；3—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；4—苯并 [a] 芘-r-7,t-8,9,10-四羟呋喃；5—苯并 [a] 芘-反-7,10-四羟呋喃；6—苯并 [a] 芘-反-7,8-四羟呋喃；7—苯并 [a] 芘-1,6-二酮；8—苯并 [a] 芘-3,6-二酮；9—12-羟基苯并 [a] 芘；10—9-羟基苯并 [a] 芘；11—2-羟基苯并 [a] 芘；12—7-羟基苯并 [a] 芘；13—3-羟基苯并 [a] 芘；14—6-羟基苯并 [a] 芘

色谱柱：填充 bakcer-Bond C_{18} 载体，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：甲醇+水（体积比=81.75∶18.25）

检测器：UV（254 nm）

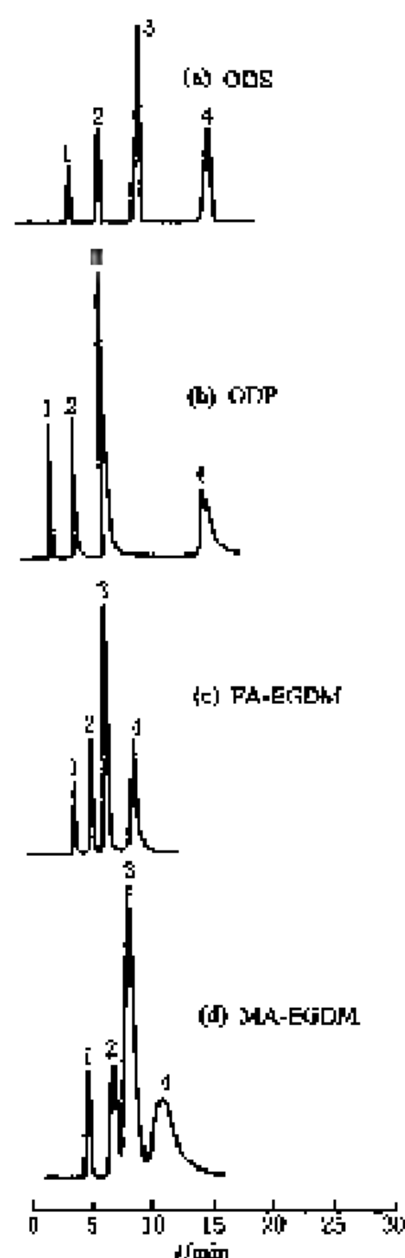


图 10-196 苯和 1,2,4-三氯苯分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—苯；2—萘；3—芴；4—芘

色谱柱：150 mm × 4.6 mm（内径），填充 (a) ODS；(b) ODP；(c) EP-EGDM；(d) MA-EGDM

流动相：乙腈＋水（体积比＝60∶40）

流　速：(a)，(b) 1.0 ml·min^{-1}；(c)，(d) 0.5 ml·min^{-1}

检测器：紫外，二极管矩阵



图 10-197 苯和 1,2,4-三氯苯分离谱图（二）[illegible]

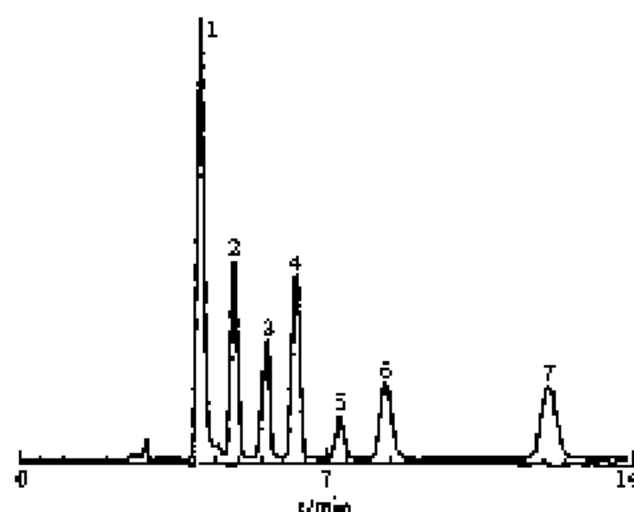
色谱峰：1—苯；2—1,2,4-三氯苯

色谱柱：150 mm × 4.6 mm（内径），填充 (a) ODS；(b) ODP；(c) EP-EGDM；(d) MA-EGDM

流动相：乙腈＋水（体积比＝60∶40）

流　速：(a)，(b) 1.0 ml·min^{-1}；(c)，(d) 0.5 ml·min^{-1}

检测器：紫外，二极管矩阵



色谱峰：1—二硫代苯并咪唑；2—氧化芬苯达唑；3—对羟基芬苯达唑；4—芬苯达唑砜；5—甲苯咪唑；6—丙硫咪唑；7—芬苯达唑

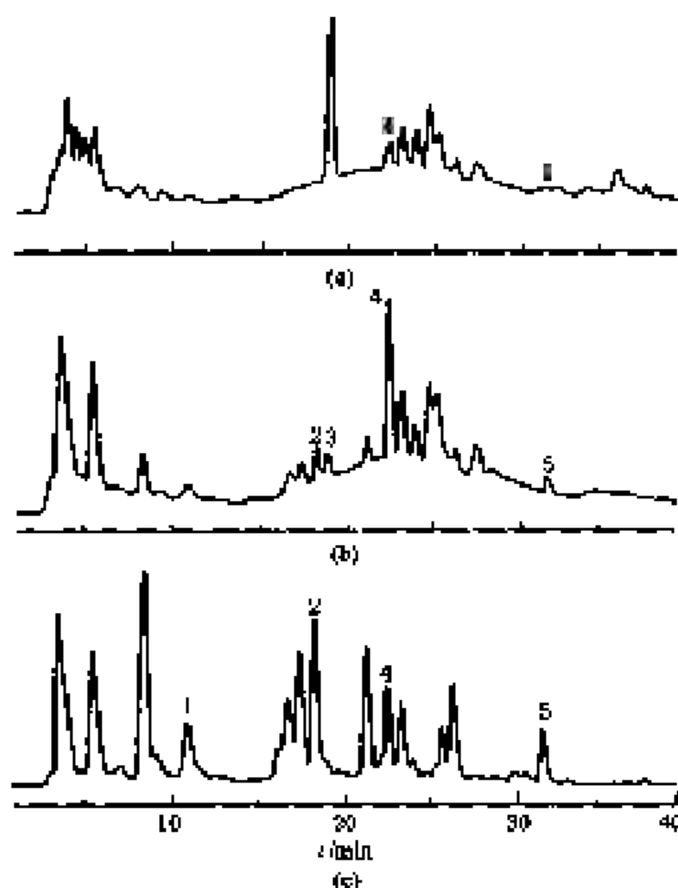
色谱柱：填充ODS载体 40 cm×4 mm（内径）

流动相：H_3PO_4－乙腈（体积比＝60：40）

柱　温：45℃

检测器：光电二极管矩阵（290 nm）

图10-198　几种苯并咪唑分离谱图[111]



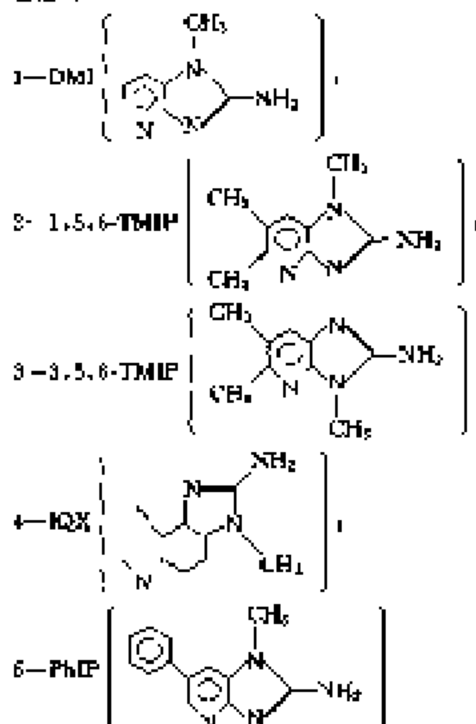


图10-199　烤肉中的氮杂环化合物谱图[116]

色谱柱：ODS80-TM，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：A＝0.025 mol·L⁻¹醋酸三乙胺（pH3.6），B＝乙腈

梯度洗脱：5%B $\xrightarrow{5\ min}$ 5%B $\xrightarrow{10\ min}$ 17%B $\xrightarrow{10\ min}$ 25%B $\xrightarrow{0\ min}$ 55% $\xrightarrow{5\ min}$ 80%B

流　速：1 mL·min⁻¹

检测器：(a)UV（262 nm）；(b)UV（305 nm）；(c)荧光（λ_{Em}＝507 nm，λ_{Ex}＝370 nm）

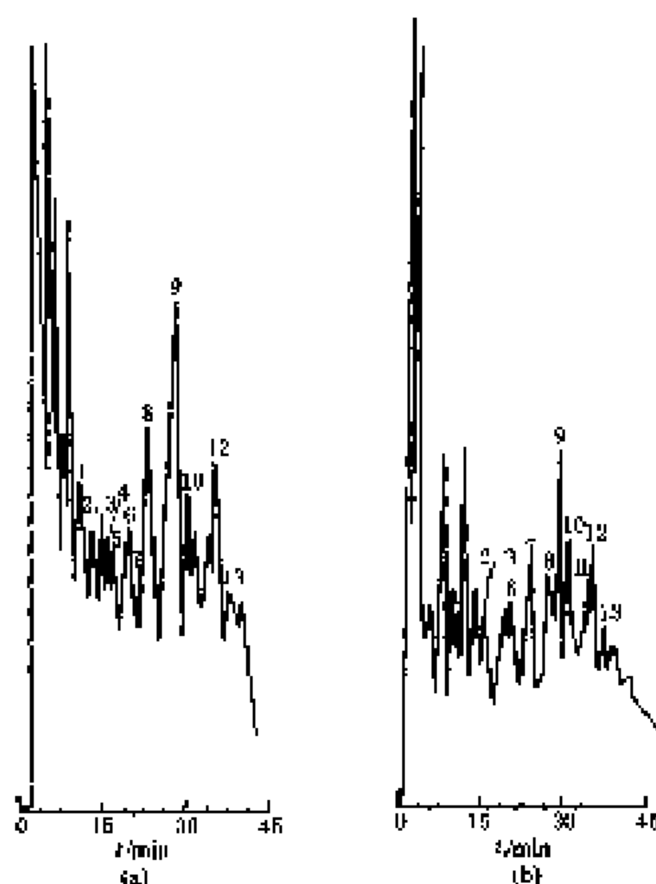


图 10-200 空气样品中多环芳烃分析谱图[107]

色谱峰：1—萘；2—苊；3—二氢苊；4—芴；5—菲；6—蒽；7—荧蒽；8—芘；9—苯蒽；10—苯[e]芘；11—苯[a]芘；12—苯[ghi]苝；13—二苯并[ah]蒽

色谱柱：填充 C_{18} Nucleosil，150 mm×4.6 mm，5 μm 载体

流动相：(a) 乙腈+0.2 mol·L⁻¹ SDS；(b) 乙腈+Milli-Q

流　速：(a) 0.5 mL·min⁻¹；(b) 1 mL·min⁻¹

检测器：荧光检测 (254 nm，375 nm)

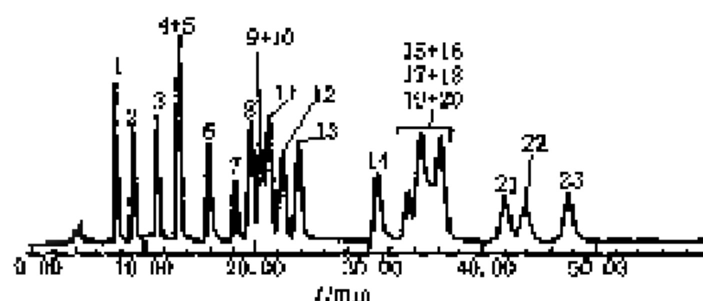


图 10-201 弹药有毒物地下水分离谱图[108]

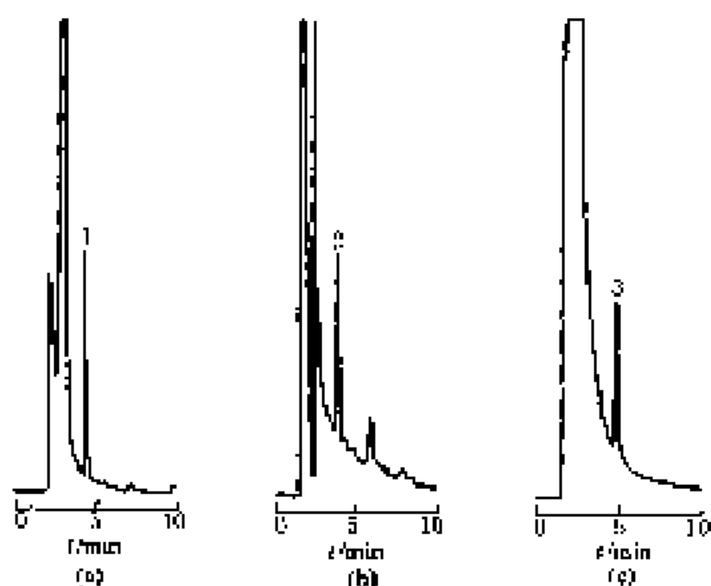
色谱峰：1—1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-四氮环辛烷；2—3,4-二硝基苯甲酸；3—2-硝基苯甲酸；4—1,3,5-三硝基六氢-1,3,5-三嗪；5—1,3,5-三硝基苯；6—苦味酸；7—4-硝基苯胺；8—4-硝基苯酚；9—1,3-二硝基苯；10—4-硝基苯甲酸；11—3-硝基苯甲酸；12—2,4,6-三硝基甲苯；13—2,6-二硝基对甲苯酚；14—3,5-二硝基苯胺；15—2,4-二硝基甲苯；16—2,6-二硝基甲苯；17—3,4-二硝基甲苯；18—2-氨基-4,6-二硝基甲苯；19—4-氨基-2,6-二硝基甲苯；20—4,6-二硝基邻甲苯；21—2-硝基甲苯；22—4-硝基甲苯；23—3-硝基甲苯

色谱柱：Merck Lichrospher 60 RP-select B C_{18}，250 mm×4 mm (内径)，5 μm

流动相：甲醇+水 (体积比=45:55)

流　速：0.8 mL·min⁻¹

检测器：UV (210 nm)



色谱峰：1—甲基-N-(氨基苯-磺酰基)-氨基甲酸酯；2—噻唑酮；3—福美双

色谱柱：ODS RP 柱，250 mm×4.6 mm（内径）

预　柱：C_{18}，27 mm×7 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：A 乙腈＋50 mmol·L⁻¹ KH_2PO_4 (pH3.2)（体积比＝10：90）；B 乙腈＋100 mmol·L⁻¹ KH_2PO_4 (pH3.2)（体积比＝20：80）；C 乙腈＋水（体积比＝50：50）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（270 nm）

图 10-202　河水样品中杀虫剂谱图[28]

(a) 甲基-N-(氨基苯-磺酰基) 氨基甲酸酯；(b) 噻唑酮；(c) 福美双

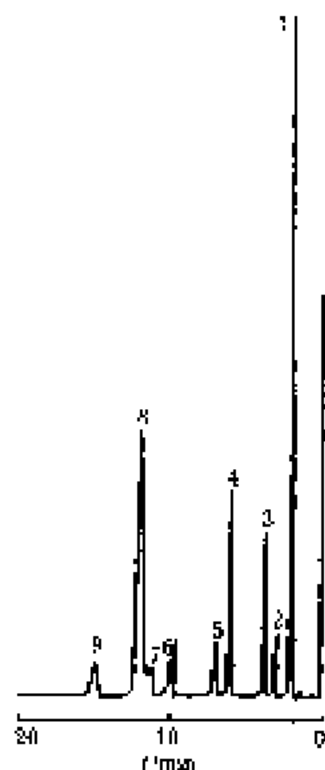


图 10-203　酚类化合物分离谱图[29]

色谱峰：1—3,4-二羟基苯甲酸；2—儿茶酚；3—香草醛；4—苯酚；5—4-羟基香豆素；6—3,5-二甲氧基苯酚；7—4-硝基苯酚；8—苯甲酸；9—甲苯酚

色谱柱：LiChrospher 100 RP-18，125 mm×4.0 mm（内径）

流动相：乙腈＋50 mmol·L⁻¹乙酸盐缓冲液 (pH4.2)（体积比＝20：80）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）

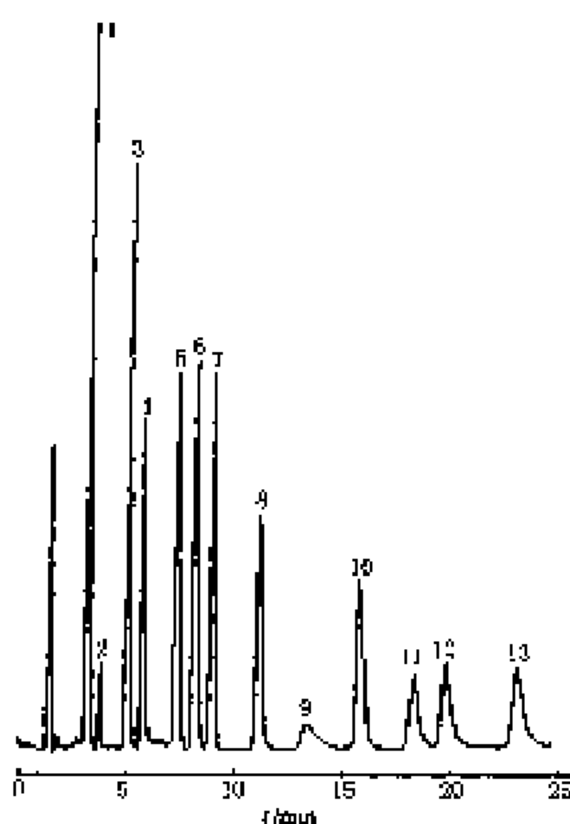


图 10-204　酚类化合物标准样谱图[30]

色谱峰：1—苯酚；2—对硝基苯酚；3—邻氯苯酚；4—邻硝基苯酚；5—2,4-二甲基苯酚；6—2,5-二氯苯酚；7—4-氯-3-甲基苯酚；8—2,6-二氯苯酚；9—五氯苯酚；10—2,4-二硝基苯酚；11—2,4,6-三氯苯酚；12—2,3,4-三氯苯酚；13—2,4,5-三氯苯酚

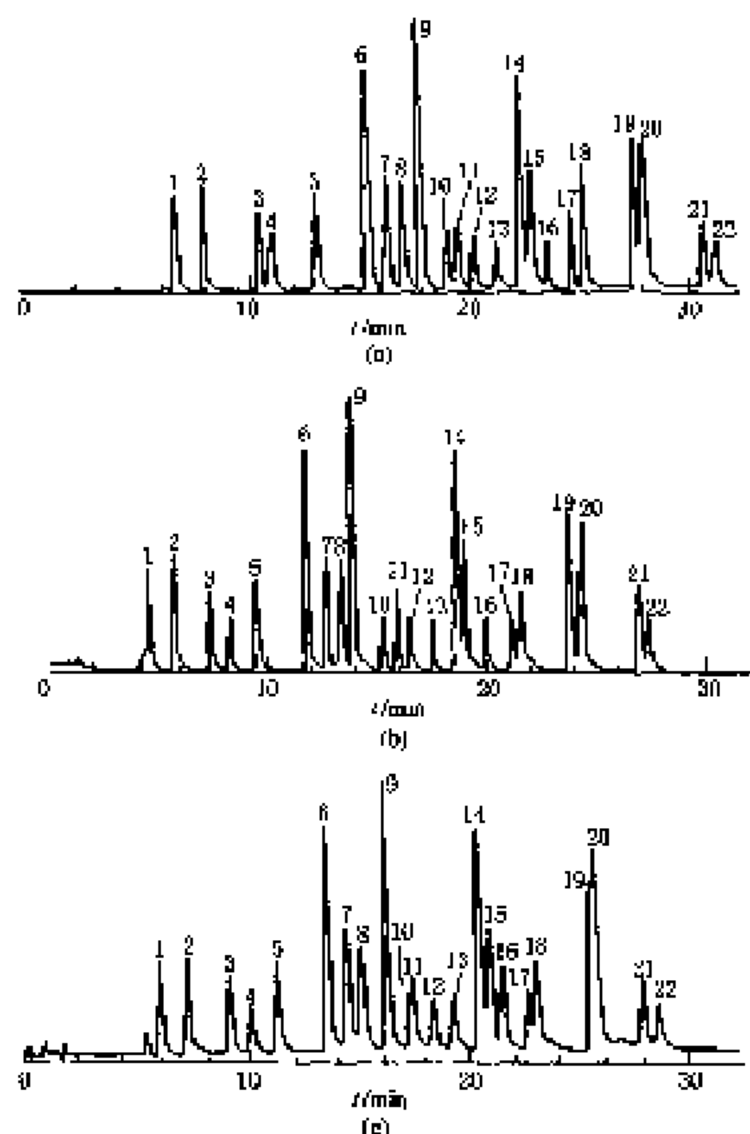
色谱柱：HP Hypersil C_{18}，250 mm×4 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：50 mmol·L⁻¹ NaAc-HAc (pH5.3)：乙腈：甲醇（体积比＝60：30：10）

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：安培检测器（+1000 mV，Ag/AgCl）



色谱峰：1—6-硝基喹啉；2—5-硝基喹啉；3—5-硝基-6-甲基喹啉；4—8-硝基-7-甲基喹啉；5—1,8-二硝基萘；6—1,5-二硝基萘；7—1-硝基萘；8—2-硝基萘；9—2-硝基联苯；10—1-硝基-α-甲基萘；11—2,7-二硝基芴；12—4-硝基联苯；13—2-硝基芴；14—9-硝基菲；15—9-硝基蒽；16—3-硝基菲；17—1,6-二硝基芘；18—1-硝基芘；19—4-硝基-对-三联苯；20—6-硝基䓛；21—3-硝基苝；22—6-硝基苯并[a]芘

色谱柱：C_{18}聚合柱（Alltech），25.0 cm×2.1 mm（内径），5 μm

流动相：(a)、(c) 21%乙腈水溶液 $\xrightarrow[31\ min]{线性梯度}$ 80%水溶液；(b) 34%乙腈水溶液+10%甲醇 $\xrightarrow[31\ min]{线性梯度}$ 80%乙腈水溶液+10%甲醇

流　速：0.5 ml·min^{-1}

温　度：(a)、(b) 35℃；(c) 55℃

检测器：UV (254 nm)

图 10-205　硝化多环芳烃的分离谱图

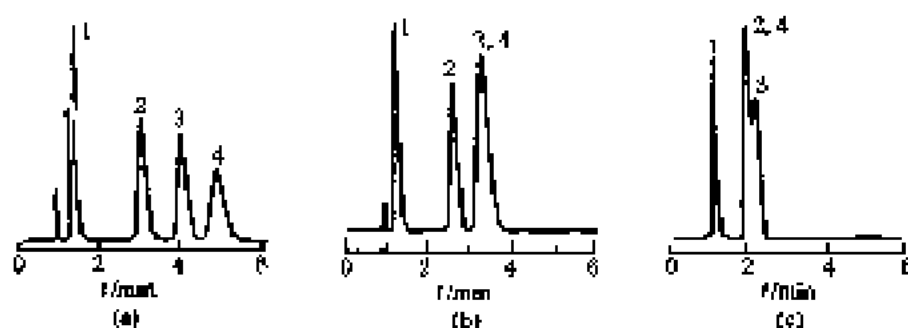


图 10-206　叠氮化合物分离谱图

色谱峰：1—叠氮苯酮；2—叠氮氢化肉桂酸；3—叠氮氢化桂酸；4—叠氮甲基三氟甲

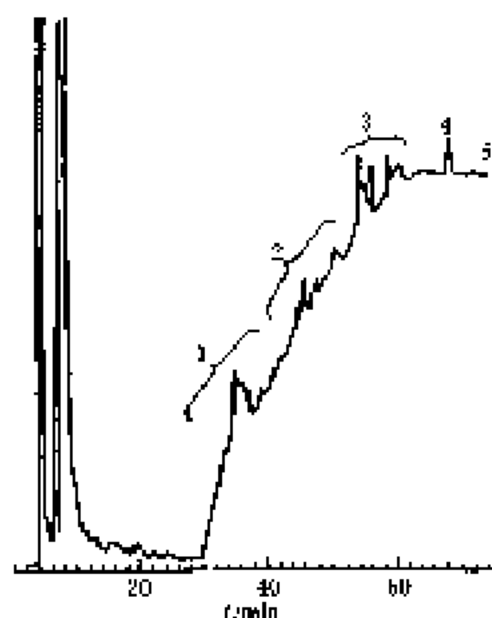
色谱柱：Spherisorb ODS-2，120 mm×4.6 mm，5 μm

流动相：SDS水溶液，(a) 0.02 mol·L^{-1}；(b) 0.06 mol·L^{-1}；(c) 0.15 mol·L^{-1}

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV (275 nm)



色谱峰：1—五氯联苯对二羟基/呋喃；2—六氯联苯对二羟基/呋喃；3—七氯联苯对二羟基呋喃；4—八氯联苯对二羟基；5—八氯联苯呋喃

色谱柱：PE-SG，250 cm×4.6 cm（内径）

流动相：溶剂A，己烷；溶剂B，二氯甲烷+己烷（体积比=90：10）

梯度冲洗：0 min $\xrightarrow[0.6\ ml\cdot min^{-1}]{100\%A}$ 31 min $\xrightarrow[0.6\sim1.5\ ml\cdot min^{-1}]{100\%A\to B}$ 60 min

检测器：UV（235 nm）

图 10-207 飘尘中多氯联苯谱图[illegible]

第五节 天然产物与食品色谱图

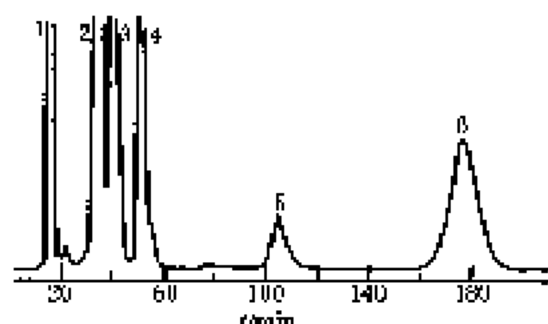


图 10-208 Broccolo 中类胡萝卜素分离谱图[illegible]

色谱峰：1—β-胡萝卜素；2—叶黄素；3—花药黄质；4—堇黄质；5—顺新黄质；6—新黄质

色谱柱：硅胶 50II 15 μm

流动相：35%丙酮/石油醚（40℃~60℃沸点）

流 速：3 ml·min⁻¹

检测器：Vis（435 nm）

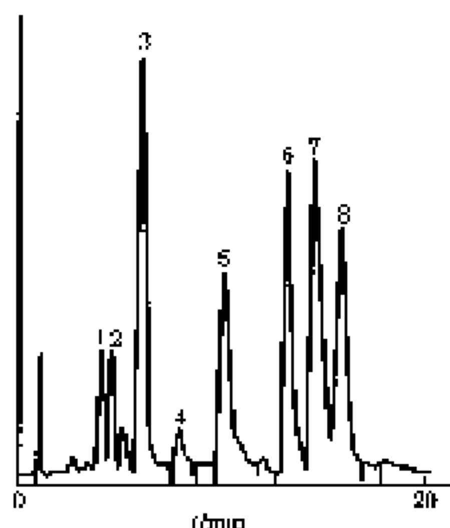


图 10-209 草中生物碱的分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—紫堇块茎碱（11-OH 二苯酚）；2—异波尔定碱（11-OH 二苯酚）；3—波尔定碱（二苯酚）；4—去—异紫堇丁（11-OH 单苯酚）；5—异紫堇丁 N-氧化物（11-OH 单苯酚）；6—六驳碱（去…单苯酚）；7—异紫堇丁（11-OH 单苯酚）；8—N-甲基-六驳碱（单苯酚）

色谱柱：Spherisorb S5 ODS S_1（C18-柱），25.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 1[illegible]%乙腈水溶液，含 0.8%二乙基胺（用 H_3PO_4 调 pH<4）；B 乙腈

梯度冲洗：0~8 min 保持 100%A；（8~11）min 0%升至 14%（线性）；（11~18）min 保持 14%B

流 速：2.50 ml·min⁻¹

温 度：30℃

检测器：UV（285 nm）

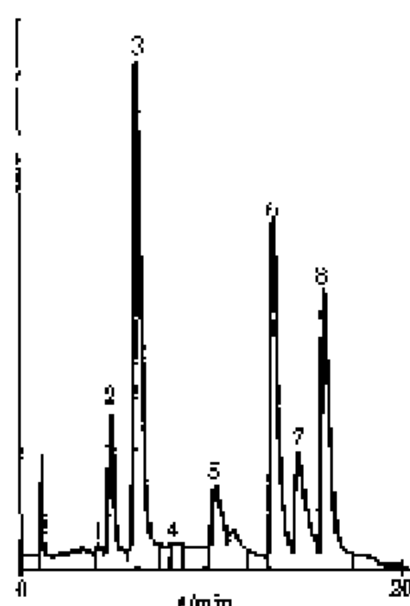


图10-210 波尔多叶中生物碱的分离谱图（二）[146]

色谱峰：1—新亚类杂碱（11-OH二苯酚）；2—异波尔定碱（11-OH二苯酚）；3—波尔定碱（二苯酚）；4—去—异紫堇丁（11-OH单苯酚）；5—异紫堇丁 N-氧化物（11-OH单苯酚）；6—六驳碱（去—单苯酚）；7—异紫堇丁（11-OH单苯酚）；8—N-甲基六驳碱（单苯酚）

色谱柱：Spherisorb S5 ODS 2（C18-硅），25.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 16.3%乙腈水溶液，含0.2%二乙胺（用磷酸 H_3PO_4 pH<3）；B 乙腈

梯度淋洗：0~8 min 保持100%A，（8~11）min 0%升至14%（线性），（11~18）min 保持14%B

流　速：2.5 ml·min⁻¹

温　度：30℃

检测器：UV（304 nm）

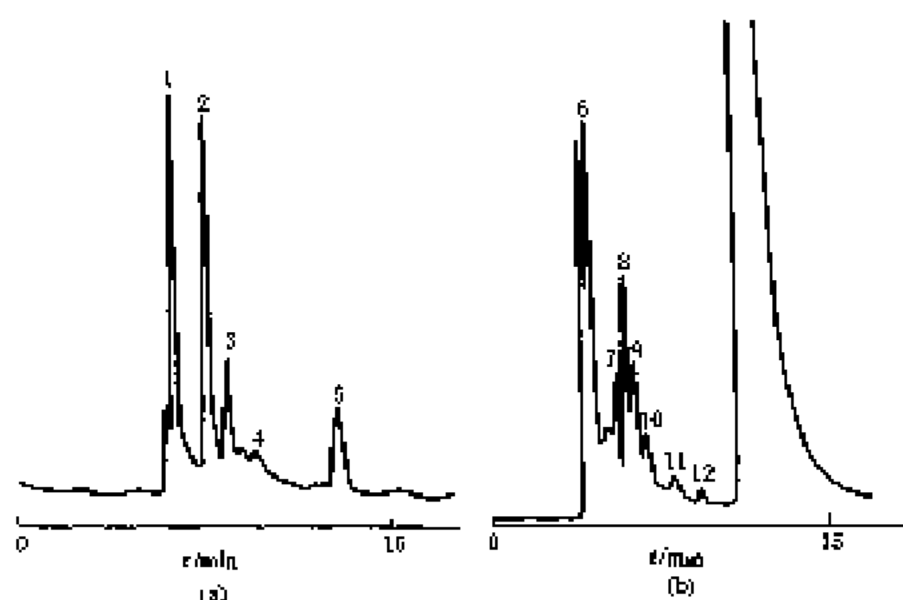


图10-211 大豆木质部（a）和韧皮部（b）树汁中羧酸的分离谱图[148]

色谱峰：1—矿物阴离子（主要 NO_3^-）；2—草酸；3—丙酮酸；4—柠檬酸；5—富马酸；6—EDTA；7—莽草酸；8—苹果酸；9—丙二酸；10—马来酸；11—柠檬酸；12—琥珀酸

色谱柱：ODS-Spheri 5（C_{18}-硅，5 μm，反相）和多孔-H（聚苯乙烯，10 μm 离子排斥），22.0 cm×4.6 mm（内径）

流动相：H_2SO_4（pH2.10）

柱　温：室温

检测器：UV(210 nm)

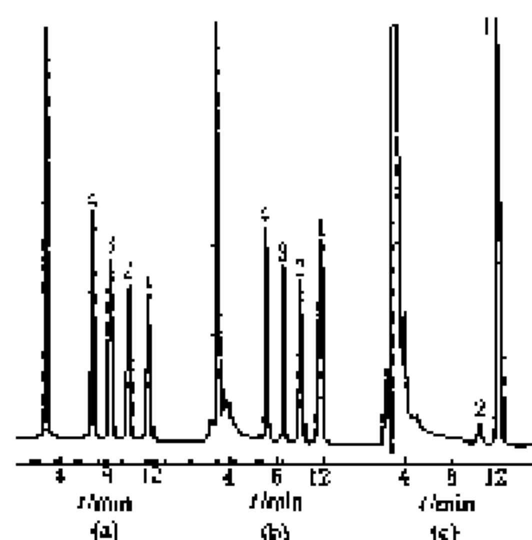


图 10-212 小球藻萃取物分离谱图[128]

(a) 内标准物；(b) 添加生育酚的小球藻素 [皂化后石油醚+二异丙醚（体积比=93∶7）萃取液]；(c) 未添加生育酚的小球藻素 [皂化后石油醚+二异丙醚（体积比=3∶1）萃取液]

色谱峰：1—α-生育酚；2—γ-生育酚；3—δ-生育酚；4—母育酚

色谱柱：Hypersil ODS，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

预　柱：RP 50 mm×3 mm

流动相：甲醇+水（96+4 体积分数）

流　速：1 ml·min⁻¹

柱　温：室温

检测器：UV(295 nm)

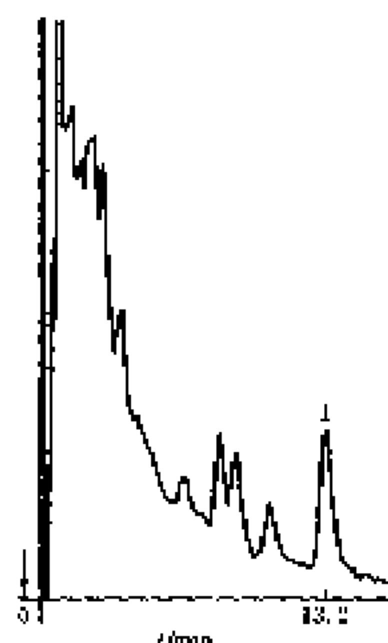


图 10-213 牛奶中黄曲霉毒素的分离谱图[149]

色谱峰：1—黄曲霉毒素 M1

色谱柱：ChromSpher C_{18}，100 mm×3.0 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：乙腈+甲醇+水（体积比=10∶10∶80），等度淋洗

流　速：0.6 ml·min⁻¹

检测器：荧光（λ_{ex}=360 nm，λ_{em}≥430 nm）

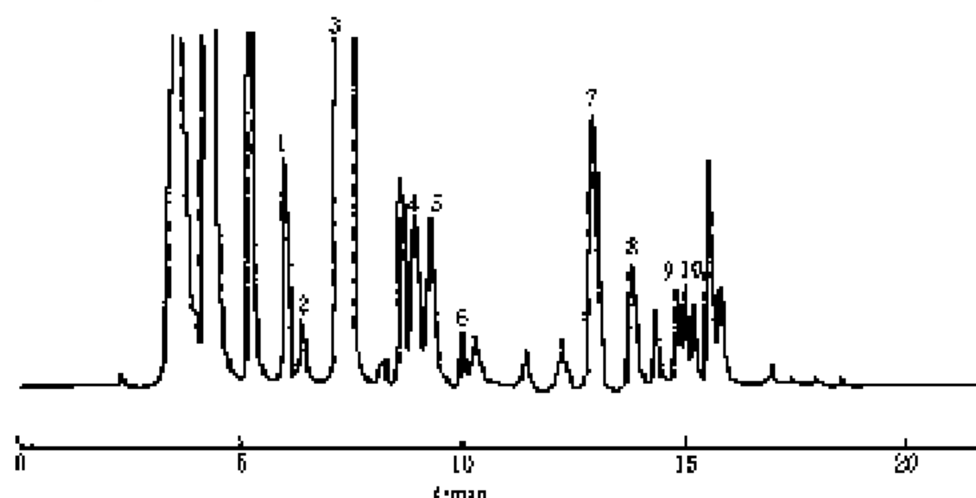


图 10-214 巴西朗姆酒中醛类标样谱图[150]

色谱峰：1—甲醛；2—5-羟甲基糠醛；3—乙醛；4—丙烯醛；5—糠醛；6—丙醛；7—丁醛；8—苯甲醛；9—异戊醛；10—正戊醛

色谱柱：Shimadzu C_{18}，15 cm×6.0 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：甲醇-水

梯度冲洗①：甲醇+水（65∶35）$\xrightarrow{6\ min}$甲醇+水（65∶35）⟶冲洗 5 min 然后甲醇+水（85∶15）$\xrightarrow{10\ min}$甲醇+水（85∶15）⟶甲醇+水（80∶20）$\xrightarrow{20\ min}$甲醇+水（80∶20）⟶甲醇+水（65∶35）$\xrightarrow{25\ min}$甲醇+水（60∶40）

① 括号内为两种溶剂的体积比。

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（365 nm）

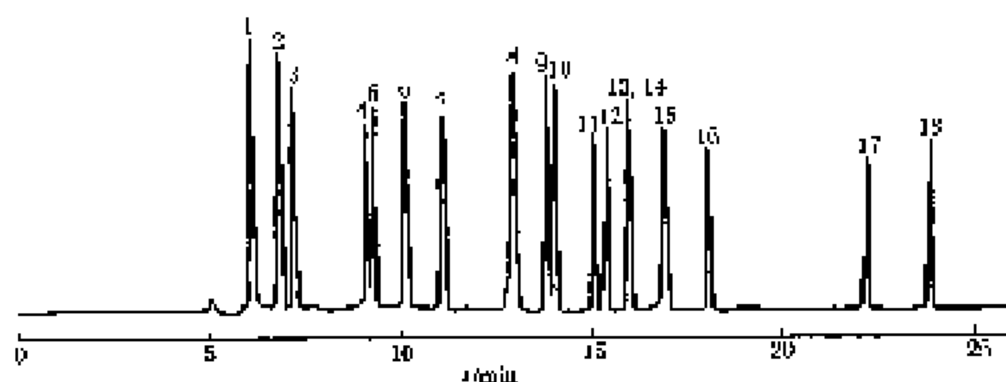


图 10-215 巴西郎姆酒中醛类分离谱图

色谱峰：1—甲醛；2—5-羟甲基糠醛；3—乙醛；4—丙烯醛；5—糠醛；6—丙醛；7—对茴香醛；8—丁醛；9—苯甲醛；10—巴豆醛；11—异戊醛；12—正戊醛；13—肉桂醛；14—2-甲基苯甲醛；15—己醛；16—庚醛；17—壬醛；18—癸醛

色谱柱：Shimadzu C_{18}，15 cm／6.0 mm（内径），5 μm

柱 温：室温

流动相：甲醇＋水

梯度冲洗①：甲醇＋水（体积比＝65∶35）$\xrightarrow{4\ min}$甲醇＋水（体积比＝65∶35）⟶冲洗 6 min 然后甲醇＋水（体积比＝85∶15）$\xrightarrow{10\ min}$甲醇＋水（体积比＝85∶15）⟶甲醇＋水（体积比＝80∶20）$\xrightarrow{20\ min}$甲醇＋水（体积比＝80∶20）⟶甲醇＋水（体积比＝65∶35）$\xrightarrow{25\ min}$甲醇＋水（体积比＝65∶35）

① 括号内为两种溶剂的体积比。

流 速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（365 nm）

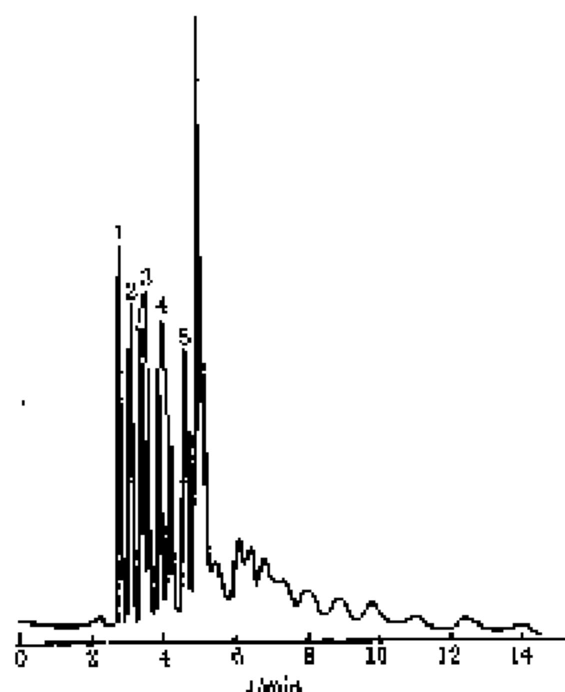


图 10-216 水解小麦淀粉分离谱图（一）

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5

保护柱：Supelguard LC-18（Supelco），2 cm×4.6 mm（内径）

分析柱：Supelcosil LC-18（Supelco）键合十八烷基硅，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：水

流 速：1 mL·min^{-1}

温 度：35℃

检测器：折射率（8X）

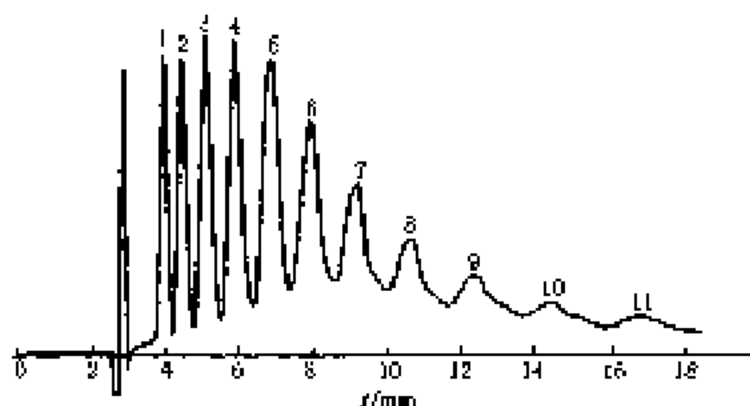


图 10-217 水解小麦淀粉分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5；6—DP6；7—DP7；8—DP8；9—DP9；10—DP10；11—DP11

保护柱：Supelguard LC-NH_2（Supelco），2 cm×4.6 mm（内径）

分析柱：Supelcosil LC-NH_2（Supelco）键合十八烷基硅胶，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈＋水（60＋40）

流　速：1 ml·min^{-1}

温　度：35℃

检测器：折射率

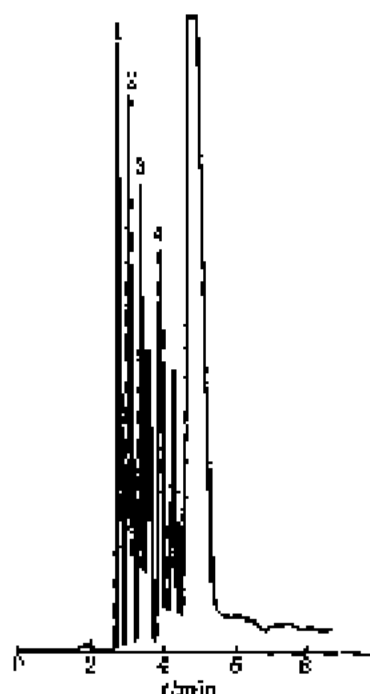


图 10-218 水解玉米淀粉分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4

色谱柱：保护柱填充 Supelguard LC-18，2 cm×4.6 mm（内径）

分析柱填充 Supelguard LC-18 键合十八烷基硅，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：水

流　速：1 ml·min^{-1}

温　度：85℃

检测器：折射率（5X）

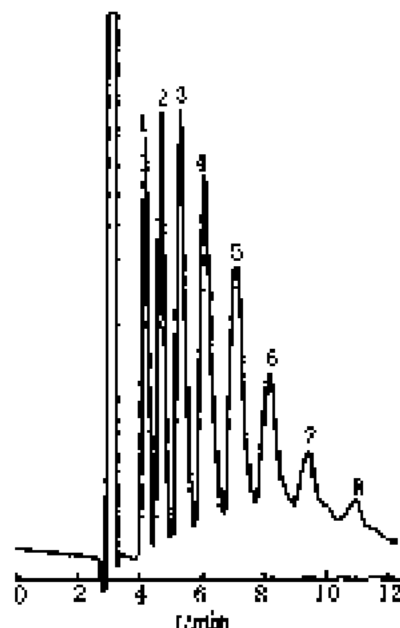


图 10-219 水解玉米淀粉分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—DP1；2—DP2；3—DP3；4—DP4；5—DP5；6—DP6；7—DP7；8—DP8

色谱柱：保护柱 Supelguard LC-NH_2，2 cm×4.6 mm（内径）

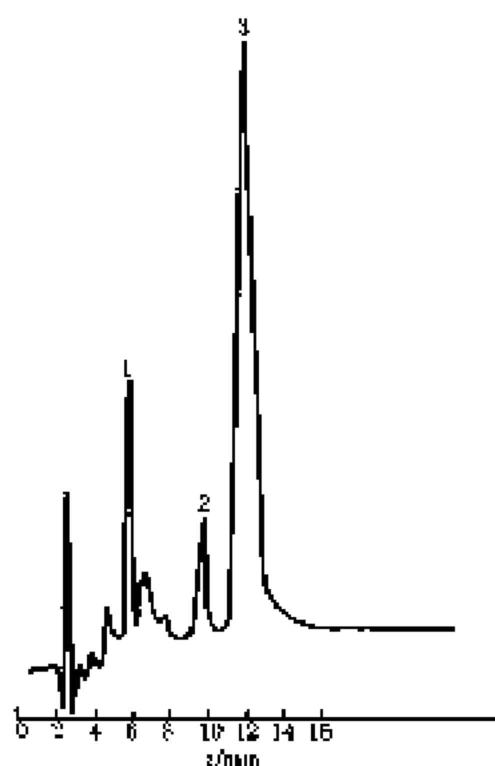
分析柱 Supelcosil LC-NH_2（Supelco）键合丙氨基硅胶 25 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈＋水（60＋40）

流　速：1 ml·min^{-1}

温　度：35℃

检测器：折射率



色谱峰：1—酪胺；2—苯丙氨酸；3—色氨酸

色谱柱：填充 μBondapak C-18

流动相：水+甲醇(体积比=35∶65)(内含 0.005 mol·L^{-1} 1-庚烷基磺酸反相离子)

检测器：UV(254 nm)

图 10-220　奶酪中生物胺分离谱图[illegible]

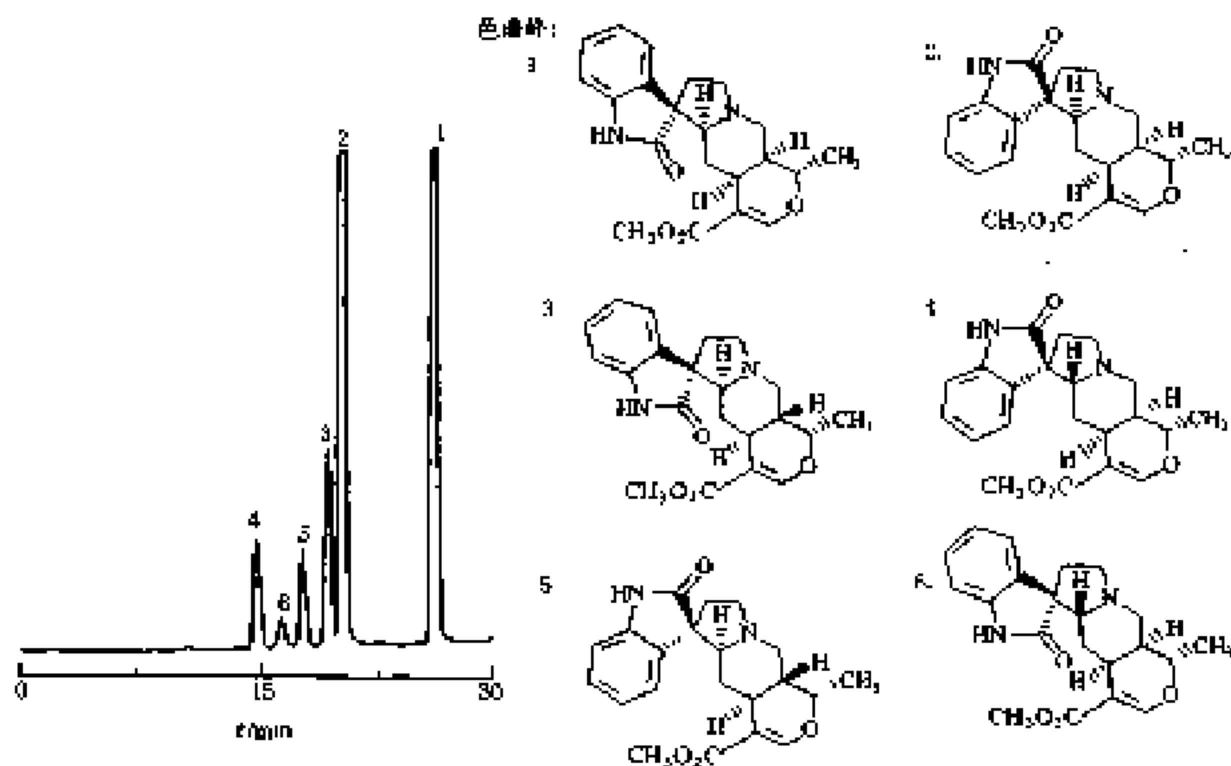
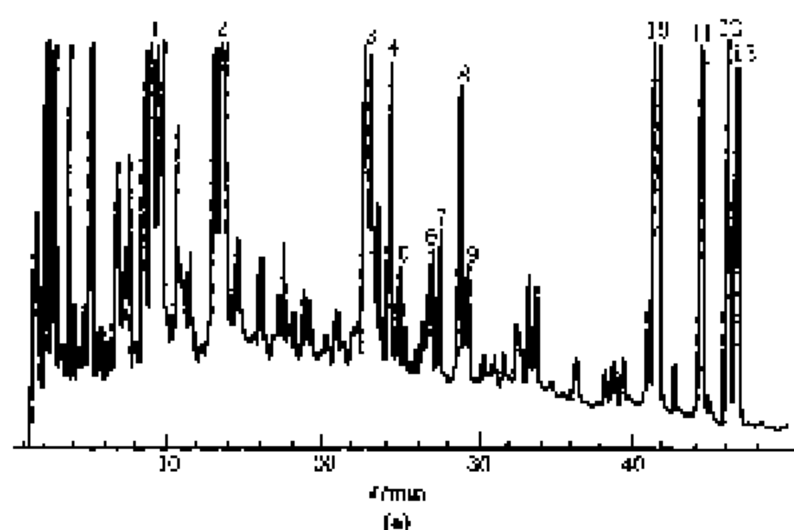


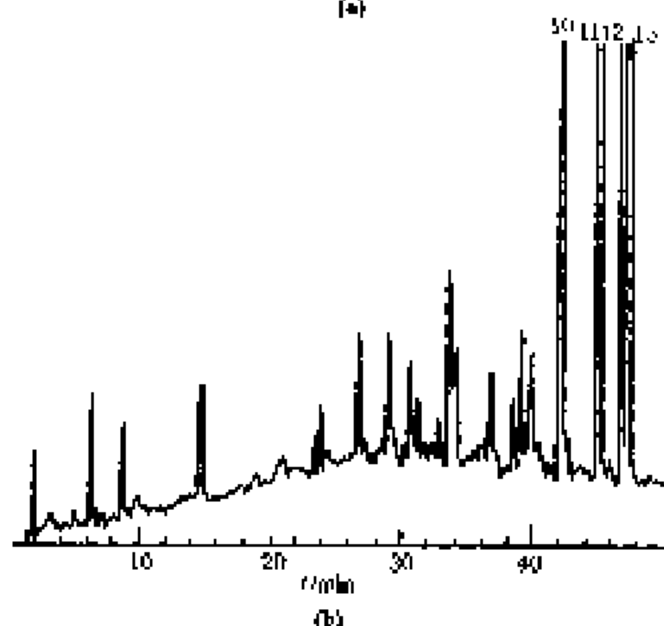
图 10-221　生物碱混合物分离谱图[illegible]

色谱柱：LiChrospher 100 RP-18，125 mm×4 mm，5 μm

流动相：线性梯度 0 min 甲醇+乙腈（体积比=1∶1）含 60%磷酸盐缓冲液（10 mmol·L^{-1}，pH6.6），30 min 缓冲液减至 30%磷酸盐缓冲液

流　速：1.0 ml·min^{-1}　　　　检测器：UV（245 nm）





色谱峰：1—咖啡酸；2—没食子酸表儿茶素；3—表儿茶素；4～9—黄酮醇苷；10—花青素；11—花翠素-3-葡糖苷；12—花青素-3-葡糖苷；13—花青素-3,5'-二葡糖苷

色谱柱：Hypersil 5ODS (C_{18}) (Hichrom Excel)，25 cm×4.6 mm (内径)，5 μm

流动相：A 2%柠檬酸 (以 NaOH 调 pH2.8)；B 乙腈

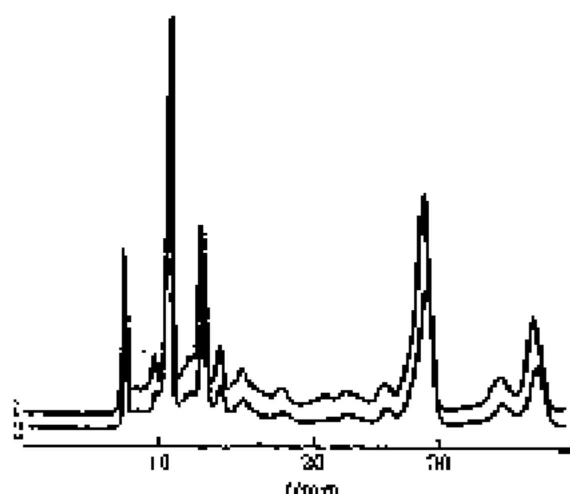
线性梯度冲洗：5%B $\xrightarrow{55\ min}$ 39%B

流 速：1.5 mL·min⁻¹

温 度：室温

检测器：(a) UV (280 nm)；(b) UV (460 nm)

图 10-222 红葡叶的分离谱图



色谱峰：1—葡萄酒样；2—含有组胺的葡萄酒样

色谱柱：填充 LiChrosorb Si-60

流动相：0.5 mol·L⁻¹ $(NH_4)_2SO_4$ (pH6)

流 速：0.6 mL·min⁻¹

检测器：UV (210 nm)

图 10-223 红酒中组胺分离谱图

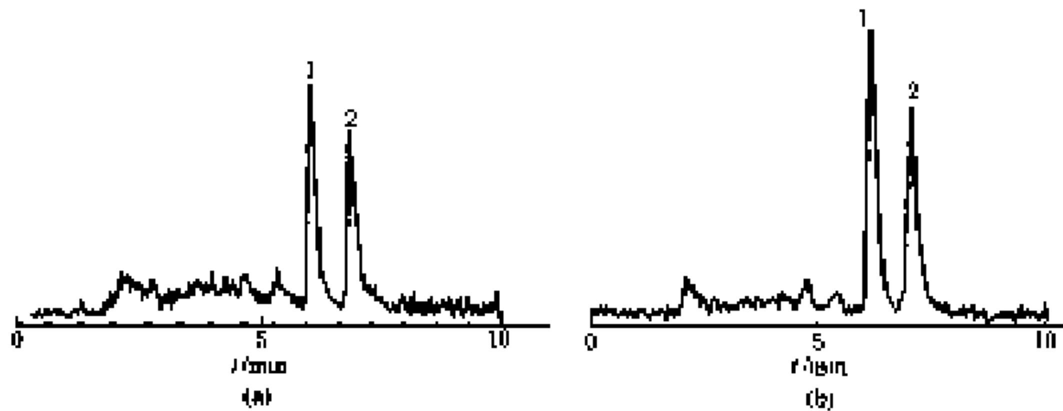


图 10-224　鸡肉中维生素E分析谱图[?]

(a) 鸡胸肉；(b) 鸡腿肉

色谱峰：1—γ-维生素E；2—α-维生素E

色谱柱：BioSil ODS-5S (C_{18}-硅) (Bio-Rad)，25.0 cm×4.0 mm (内径)，5 μm

流动相：100%甲醇

流　速：1.0 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：荧光检测器 (λ_{ex}=295 nm，λ_{em}=330 nm)

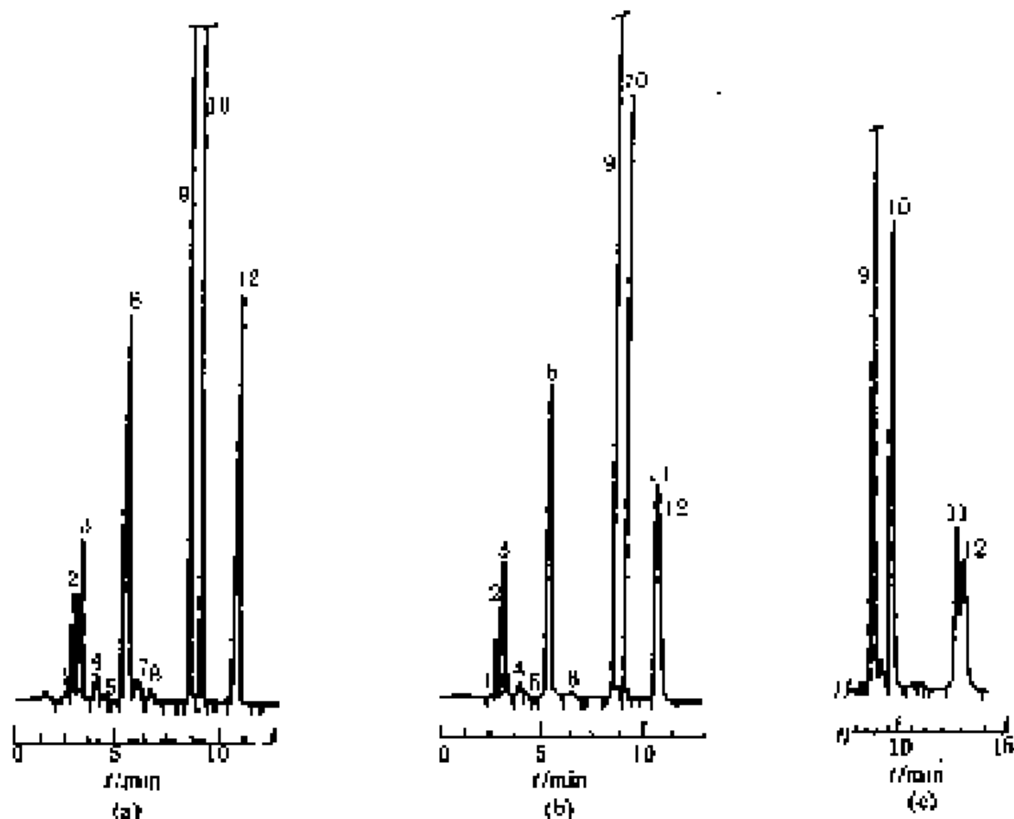


图 10-225　欧洲白桦树 (a) 和榉树 (b)、(c) 的绿叶色素萃取物分离谱图[164]

色谱峰：1—新叶黄素；2—顺-新叶黄素；3—紫黄质；4—蒲公英黄质；5—花药黄质；6—叶黄素；7—玉米黄质；8—顺-叶黄素；9—叶绿素b；10—叶绿素a；11—α-胡萝卜素；12—β-胡萝卜素

色谱柱：NovaPak C_{18}，4 μm，100 mm×8.0 mm (内径)

流动相：A 乙腈+甲醇 (7+1) (8 min)；B 乙腈+甲醇+水 (7+0.96+0.04) 内含20%乙酸乙酯 (1.6 min)；C 乙腈+甲醇+水 (7+0.96+0.04) 内含50%乙酸乙酯 (8 min)

检测器：UV (450 nm)

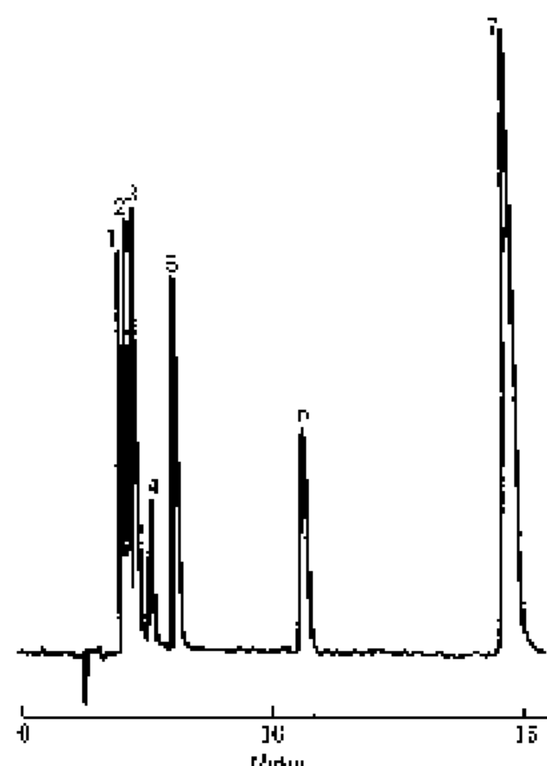


图 10-226 兹尔多生物碱分析谱图

色谱峰：1—磺胺醋酰 2—磺胺嘧啶；3—曲美普林；4—磺胺甲嘧啶；5—磺胺二甲嘧啶；6—磺胺异噁唑；7—磺胺喹噁啉

色谱柱：Ultrasphere 离子对（C_{18} 柱）（Beckmann）25.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈−甲醇+0.1 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH4.0）（体积比=20：10：70）

温　度：室温

检测器：UV（280 nm）

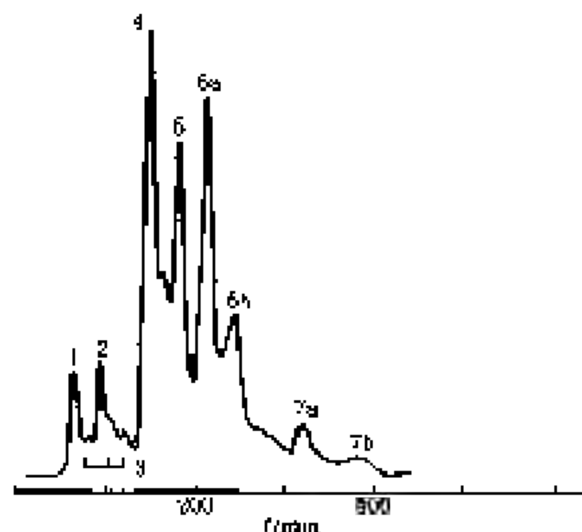


图 10-227 玫瑰果子中类胡萝卜素谱图

色谱峰：1—叶黄素；2—玉红黄素；3—叶黄素单酯；4—γ-胡萝卜素；5—β-胡萝卜素；6—α,β玉红黄素酯；7—α,β叶黄素二酯

色谱柱：LiChrosorb RP-18，200 mm×2 mm（内径）

流动相：石油醚精油：乙腈-甲醇-四氢呋喃（体积比=10：15：65：10）

流　速：0.2 ml·min^{-1}

检测器：Vis（435 nm）

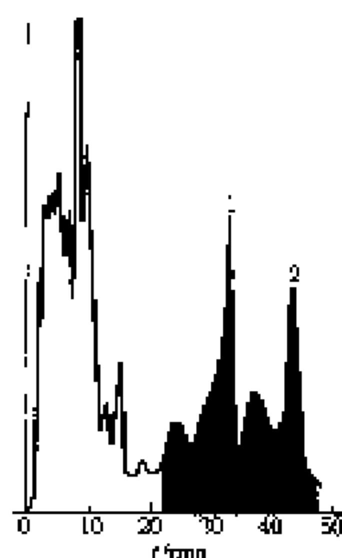


图 10-228 鱼油中ω-3-脂肪酸谱图（一）

色谱峰：1—二十碳五烯酸；2—二十二碳六烯酸

色谱柱：Waters Delta-Pak™ C_{18}（Millipore）键合十八烷基硅，30 cm×7.8 mm（内径），15 μm

流动相：乙腈+水（体积比=80：20）

流　速：1.6 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV（245 nm）

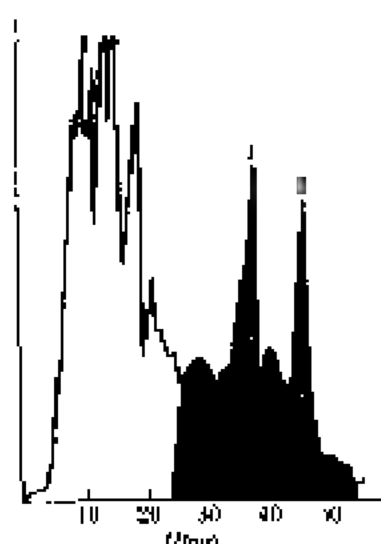


图 10-229　鱼油中 ω-3 脂肪酸谱图（二）[134]

色谱峰　1—二十碳五烯酸；2—二十二碳六烯酸

色谱柱　Waters PrepPak 硅键合十八烷基柱，30 cm×57 mm（内径），15 μm

流动相　乙醇+水（体积比=80∶20）

流　速　85 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器．UV（215 nm）

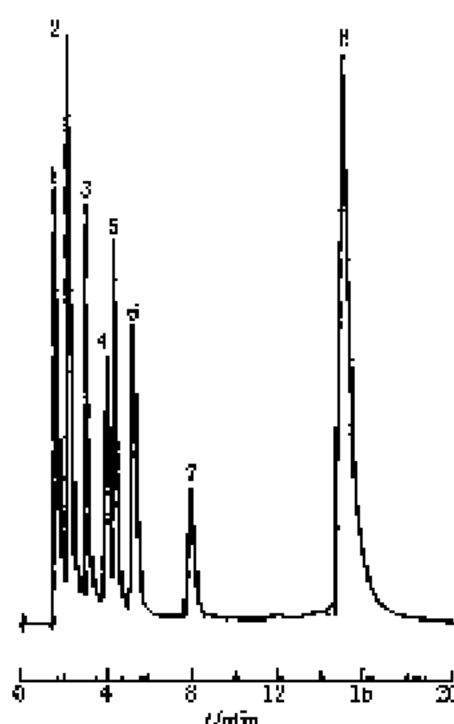


图 10-231　类胡萝卜素分离谱图[27]

色谱峰：1—甲基红；2—辣椒玉红素；3—辣椒红；4—叶黄素；5—玉米黄质；6—隐辣椒红；7—β-隐黄质；8—β-胡萝卜素

色谱柱：Merck Superspher RP-18，125 mm×4 mm（内径），4 μm

保护柱：Merck，Lichrospher 100RP-18，4.0 mm×4 mm（内径），5 μm

柱　温：0℃

流动相　乙腈+2-丙醇+乙酸乙酯（体积比=80∶10∶10）

流　速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：UV（452 nm）

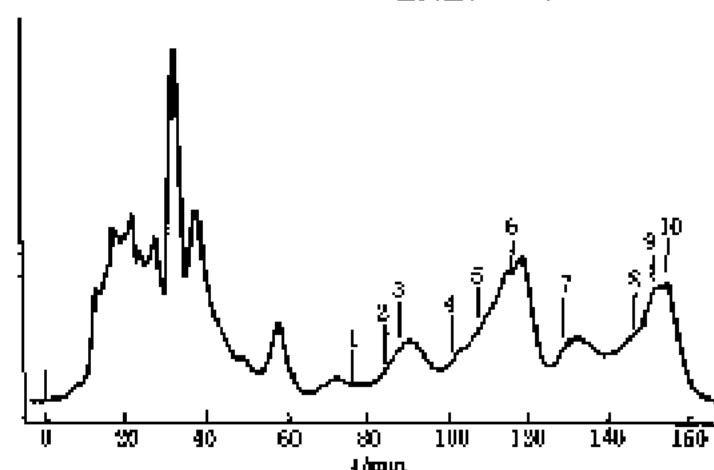


图 10-230　鱼油中 ω-3-脂肪酸谱图（三）[135]

色谱峰：1—样品基体；2—样品基体；3—样品基体；4—二十碳五烯酸；5—二十碳五烯酸；6—二十碳五烯酸；7—样品基体；8—二十二碳六烯酸；9—二十二碳六烯酸；10—二十二碳六烯酸

色谱柱　Waters Kiloprep™250 柱（Millipore），Waters Delta Pak™ C_{18}（Millipore）键合十八烷基柱，60 cm×10 mm（内径），(15~30) μm

流动相：乙醇+水（体积比=80∶20）

流　速：2.75 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV（245 nm）

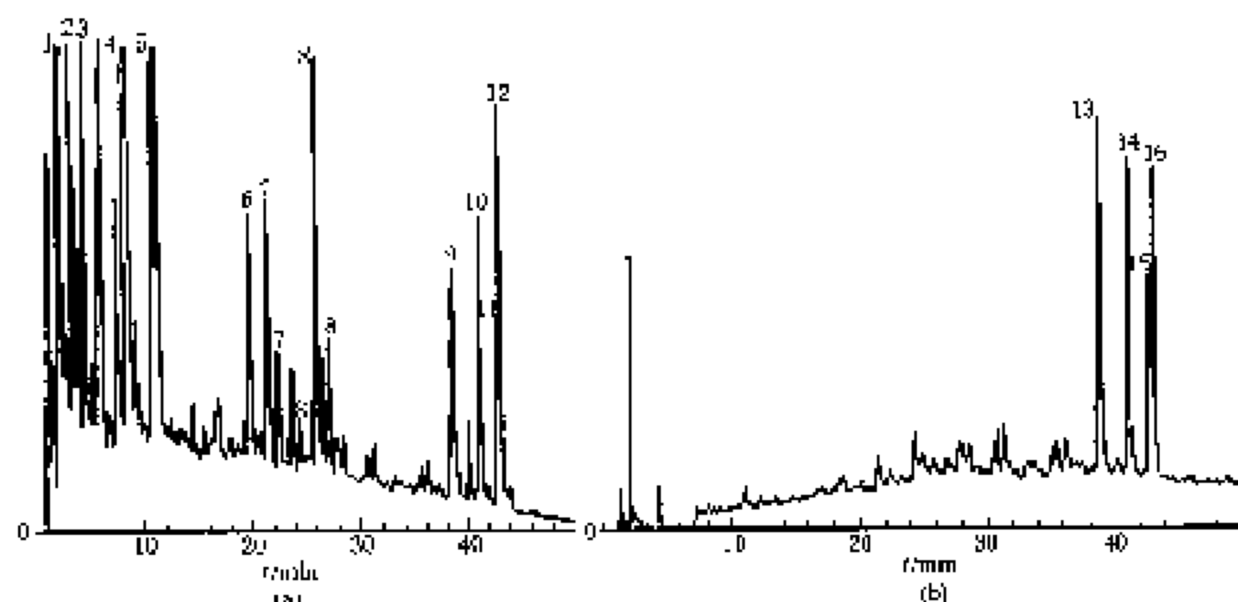


图 10-232　茶叶的分离谱图[114]

色谱峰：1—3-没食子酰奎尼酸；2—没食子酸；3—可可碱；4—咖啡碱；5—(－)表儿茶素；6—酰表儿茶素；7—糖类芸黄酮醇苷；8—双非常芸黄酮醇苷；9—茶黄素；10—茶黄素-3-酸；11—茶黄素-3'-酸；12—茶黄素-3，3'-二酸；13—茶黄素；14—茶黄素-3-酸；15—茶黄素-3'-酸；16—茶黄素-3，3'-二酸

色谱柱：Hypersil ODS

流动相：线性梯度（φ—2%乙酸水溶液＋乙腈），乙腈从8%变化至31%，(50 min 以上)

检测器：(a) UV (280 nm)；(b) UV (460 nm)

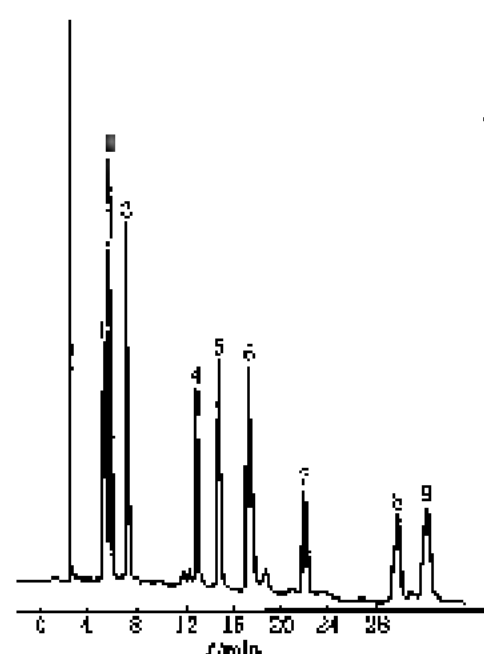


图 10-233　9种类胡萝卜素标准样分离谱图[105]

色谱峰：1—叶黄素；2—玉米黄质；3—角黄素；4—隐黄质；5—海胆酮；6—番茄红素；7—torulene；8—α-胡萝卜素；9—β-胡萝卜素

色谱柱：Zorbax ODS，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈＋二氯甲烷＋甲醇（70∶20∶10）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (450 nm)

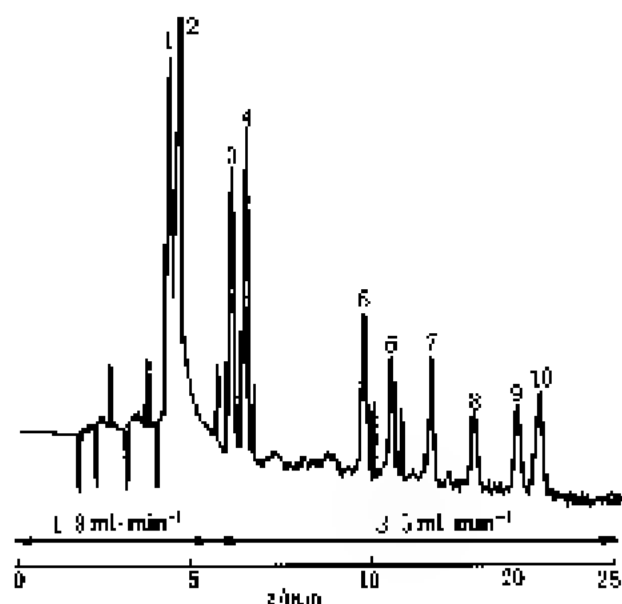


图 10-234　类胡萝卜素标准样分离谱图[107]

色谱峰：1—叶黄素；2—玉米黄质；3—角黄素；4—β-脱辅基-8'-胡萝卜醛；5—β-隐黄质；6—β-胡萝卜素-4-酮；7—番茄红素；8—γ-胡萝卜素；9—α-胡萝卜素；10—β-胡萝卜素

色谱柱：填充 Spheri-5-RP-18 柱，220 mm×4.6 mm（内径），5 μm

保护柱：填充 ODS 的 RP-18，15 mm×3.2 mm

流动相：乙腈—甲醇（85∶15）

检测范围：×0.02AUFS 5 min 然后×0.05AUFS

流　速：从 1.8 ml·min^{-1} 增大到 3.5 ml·min^{-1}

检测器：紫外（450 nm）

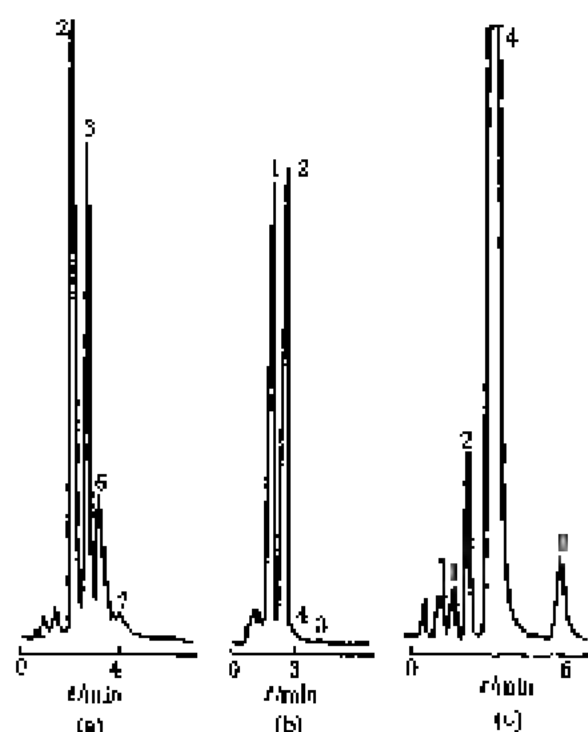


图 10-235 甜菜汁中糖分离谱图

色谱峰：1—果糖（F）；2—葡萄糖（G）；3—麦芽糖（M）；4—蔗糖（S）；5—蜜三糖（R）；6—麦芽三糖；7—麦芽四糖
色谱柱：(a) Zorbax TMS；(b) 和 (c) Lichrospher Diol
流动相：(a) CH_2Cl_2＋甲醇 (b) 和 (c) CH_2Cl_2＋甲醇（体积比＝83∶17）
流　速：2 ml·min^{-1}
柱　温：40℃
检测器：ELSD

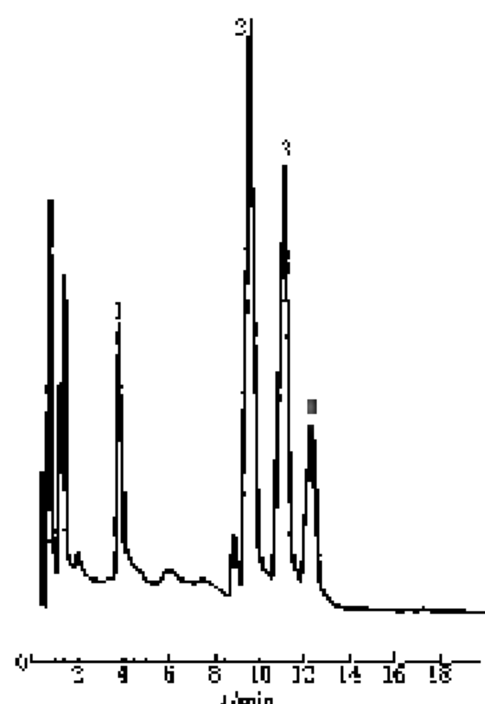


图 10-236 银杏内酯类化合物分离谱图

色谱峰：1—银杏 GC；2—银杏 B；3—银杏 GA；4—GB
色谱柱：Microsorb C_{18}球状，(100 mm×4.6 mm) 3 μm
流动相：2-丙醇－水（体积比＝10∶90）
流　速：1.0 ml·min^{-1}
检测器：UV (220 nm)

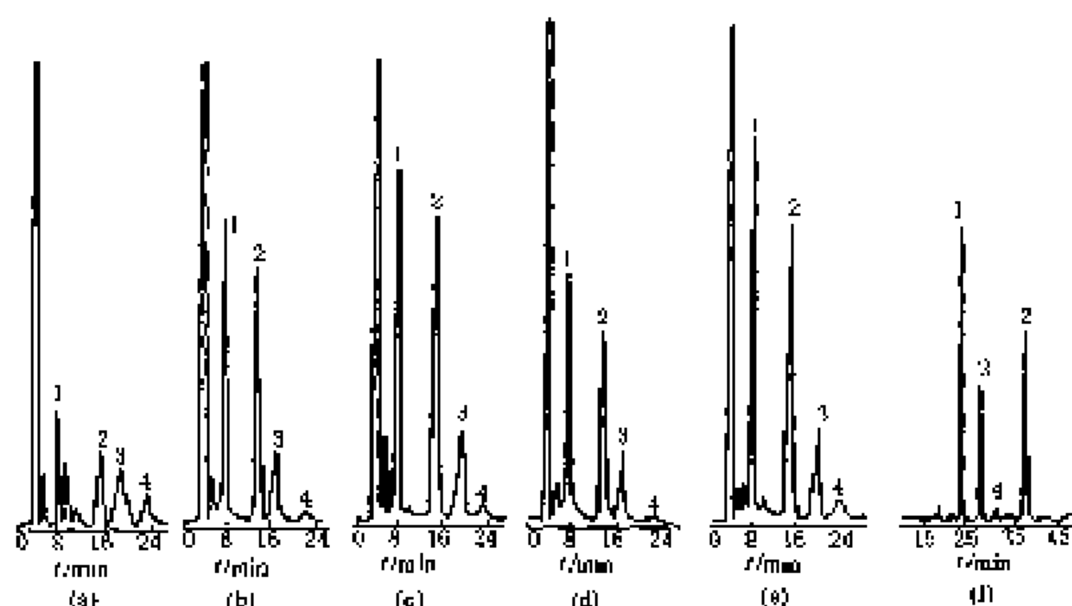


图 10-237　遗传改性和非遗传改性大豆油中磷脂成分分离谱图

(a)～(d) 从选择遗传改性大豆油样品中磷脂成分分离谱图；

(e) 非遗传改性大豆油中 PL 成分谱图；图 (f) 是图 (c) 样品的磷脂成分图

色谱峰：1—PE-磷脂酰乙醇胺；2—磷脂酸；3—磷脂酰肌醇；4—溶血磷脂酰胆碱

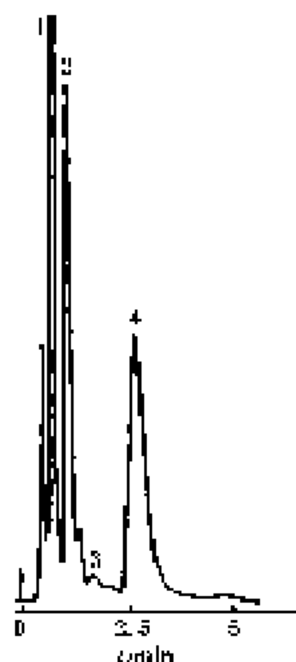
流动相：己烷+ISP—乙醇—水:5 mmol·L^{-1} TMAP (pH6.3)（体积比=35:32.7:26.8:5.5）

色谱柱：Si 柱

检测器：ELSD

流动相：己烷-ISP-乙醇-水/5 mmol·L^{-1} TMAP (pH6.3)（35:32.7:26.8:5.5）

检测器：UV (208 nm)，ELSD



色谱峰：1—酒石酸；2—苹果酸；3—乳酸；4—乙酸

色谱柱：PRP-X300 (Hamilton) 磺酸化聚苯乙烯-二乙烯苯，15.0 cm×4.0 mm（内径），7 μm

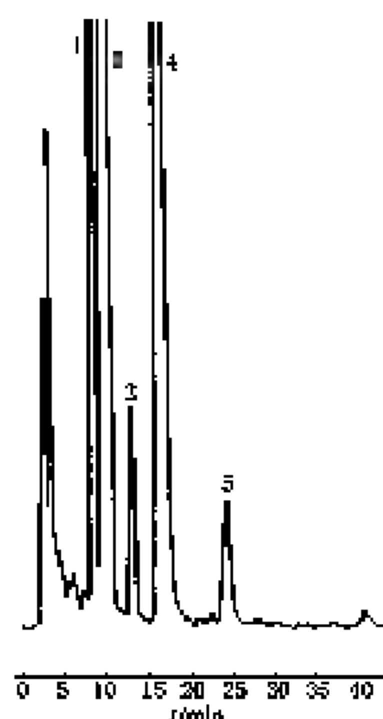
流动相：0.005 mol·L^{-1} H_2SO_4

温　度：室温

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV (210 nm)

图 10-238　葡萄汁中有机酸分离谱图



色谱峰：1—翠雀素-3-葡萄糖苷；2—翠雀素-3-芸香糖苷；3-氰定花青素-3-葡萄糖苷；4—氰定花青素-3—芸香糖苷；5—天竺葵素-3-芸香糖苷

色谱柱：RP-18 Lichrosorb（Merck），25.0 cm × 4.6 mm（内径），5 μm

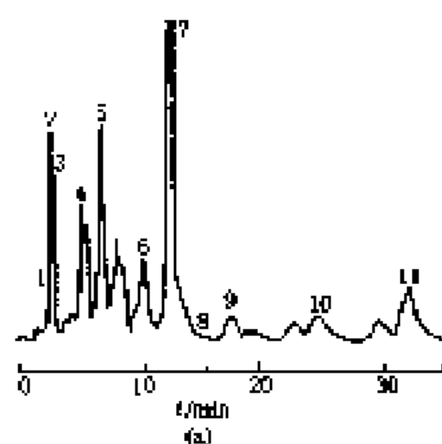
流动相：水＋乙腈＋甲酸（体积比＝81∶9∶10）

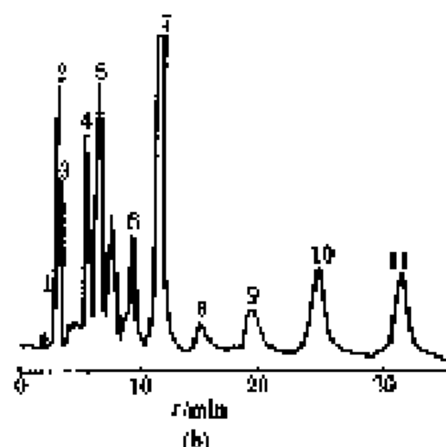
流速：1.0 ml·min^{-1}

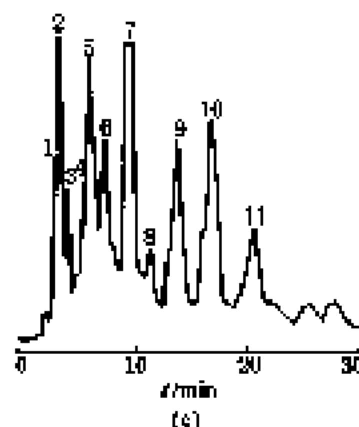
柱温：室温

检测器：UV（546 nm）

图 10-239 黑红醋栗汁的分析谱图[139]







色谱峰：1—辣椒玉红素；2—辣椒红；3—玉米黄质；4—辣椒红酯（Ⅰ）；5—辣椒红酯（Ⅱ）；6—玉米黄质酯；7—β-胡萝卜素；8—辣椒玉红素酯（Ⅰ）；9—辣椒玉红素酯（Ⅱ）；10—辣椒红酯（Ⅲ）；11—辣椒红酯（Ⅳ）

色谱柱：填充 Chromsil C_{18}，250 mm × 4.6 mm（内径）

流动相：(a) 丙酮＋水（体积比＝90∶10）

(b) 丙酮＋己烷＋水（体积比＝87.5∶2.5∶10）

(c) 乙腈＋异丙醇＋水（体积比＝39∶57∶4）

流速：1 ml·min^{-1}

检测器：紫外

图 10-240 新鲜辣椒粉分离谱图[144]

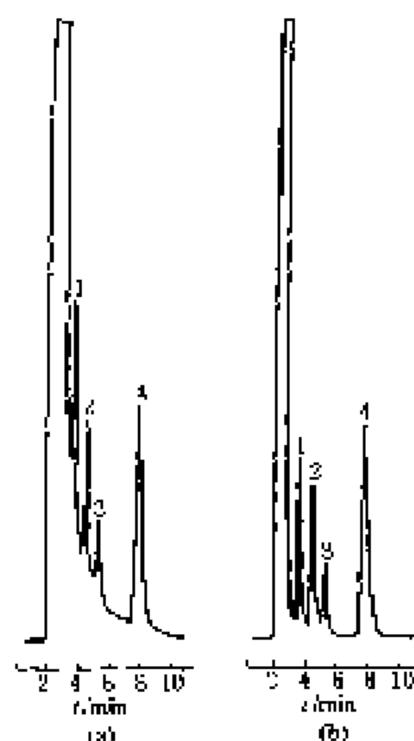


图 10-241　槟榔生物碱分离谱图[369]

色谱峰：1—四氢烟酸；2—槟榔啶；3—四氢烟酸甲酯；4—槟榔碱

色谱柱：阳离子交换树脂柱，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：85%H_3PO_4—甲醇+水（体积比=3∶400∶570），用氨水（14.6）调节至pH3.4

流　速：1.8 ml·min⁻¹

检测器：UV（215 nm）

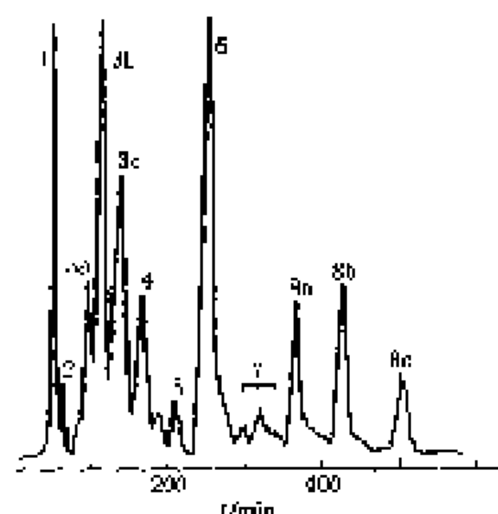


图 10-242　辣椒粉中类胡萝卜素的分离谱图（一）

色谱峰：1—辣椒素；2—玉米黄质；3—a，b，c 辣椒红素单酯；4—玉米黄质单酯；5—辣椒玉红素二酯；6—β-胡萝卜素；7—辣椒红素/辣椒玉红素二酯；8—辣椒红素二酯

色谱柱：Lichrosorb RP-18，200 mm×2 mm（内径）

流动相：石油醚馏分（沸点 40—60°C）+乙腈—甲醇+四氢呋喃（体积比=10∶17.5∶70∶2.5）

流　速：0.2 ml·min⁻¹

检测器：Vis（435 nm）

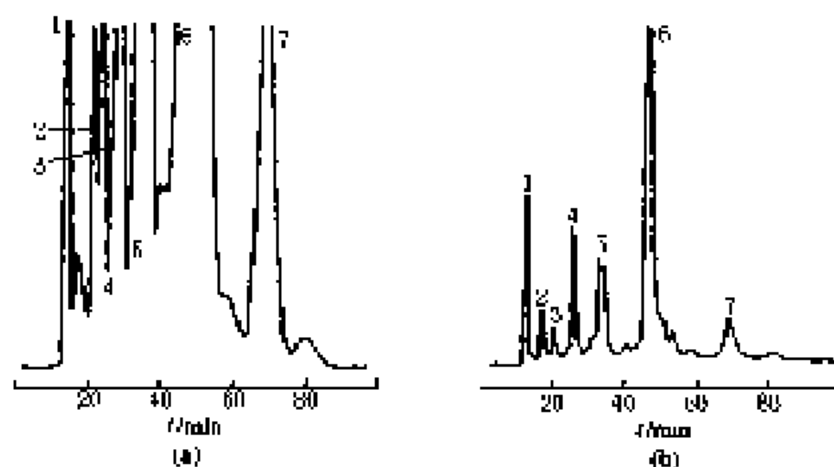


图 10-243　辣椒粉中类胡萝卜素的分离谱图（二）[376]

色谱峰：1—β-胡萝卜素；2—玉米黄质；3—环氧玉米黄质酯；4—未鉴别；5—隐黄质和玉米黄质；6—辣椒红素；7—辣椒玉红素

色谱柱：硅胶 60H 15 μm

流动相：35%丙酮+石油醚（40～60）°C 沸点

流　速：5 ml·min⁻¹

检测器：Vis（445 nm）



色谱峰：1—蔗糖和麦芽糖，2—葡萄糖；3—果糖，4—甘露醇，5—山梨醇

色谱柱：Hamilton HC 75 磺化聚 styrene（钙型），30.5 cm × 7.8 mm（内径），(10～15) μm

流动相：水

流　速：1.8 ml·min^{-1}

温　度：90℃

检测器：折射率

图 10-244　糖类化合物分离谱图[360]

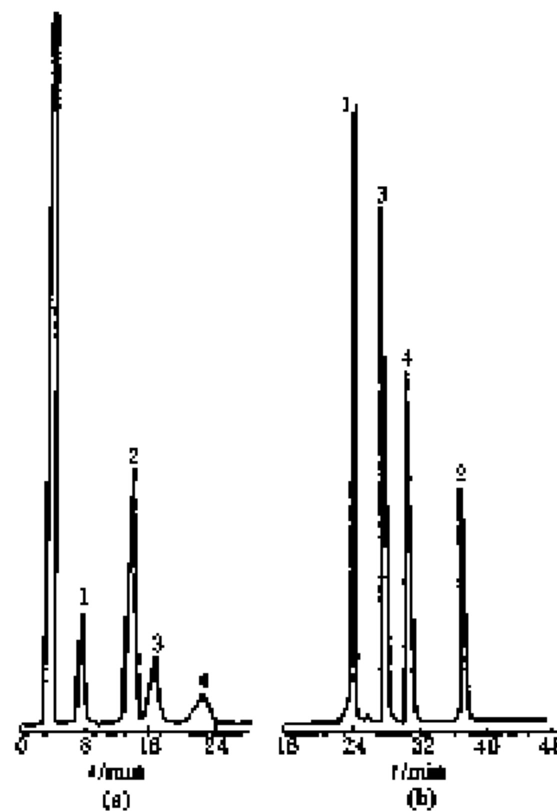


图 10-245　磷脂标准样分离谱图[125]

色谱峰：1—PE-磷脂酰乙醇胺；2—卵磷脂；3—磷脂酰肌醇；4—溶血磷脂酰胆碱

色谱柱：(a) β-CDS 柱；(b) SI 柱

流动相：(a) 己烷+ISP+乙醇+水+6 mmol·L^{-1} TMAP (pH6.3)（体积比=35∶32.7∶26.8∶5.5）；

(b) 梯度洗脱

溶剂 A：氯仿+丁甲氧胺

溶剂 B：甲醇+氯仿+氨水（体积比=92∶1∶7）

线性冲洗　从 100%A 至 100%B 30 min，然后保持 100%B 冲洗 10 min，最后线性梯度冲洗到 100%A，10 min

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV 紫外（208 nm），(b) ELSD



色谱峰：1—氰定花青素-3-槐糖苷；2—氰定花青素-3-2G-葡萄糖基芸香苷；3—氰定花青素-3-葡萄糖苷；4—氰定花青素-3-芸香糖苷

色谱柱：RP-18 Lichrospher (Merck)，25.0 cm×4.6 mm (内径)，5 μm

流动相：水+乙腈+甲酸 (体积比=81∶9∶10)

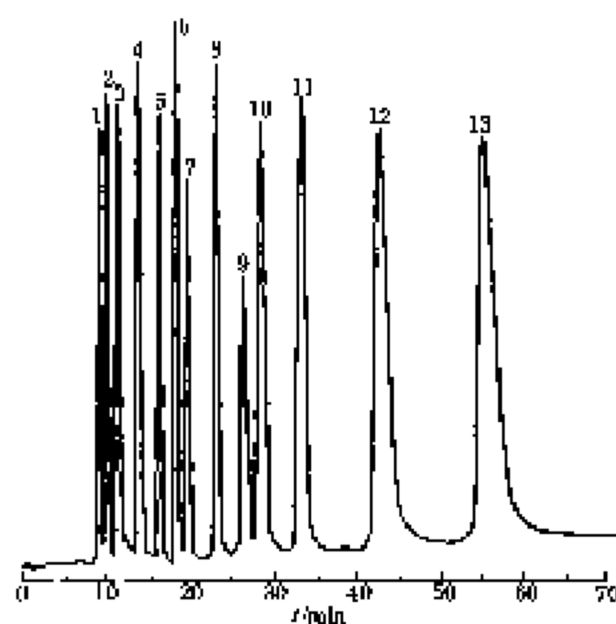
流　速：1.0 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV (546 nm)

图 10-245　覆盆子汁的分析谱图[illegible]

第六节　其他样品的反相色谱谱图



色谱峰：1—阿东糖醇；2—赤藓醇；3—甘油；4—1,2-亚乙基二醇；5—甲醇；6—乙醇；7—2-丙醇；8—1-丙醇；9—2-丁醇；10—2-甲基-1-丙醇；11—1-丁醇；12—3-甲基-1-丁醇；13—1-戊醇

色谱柱：OmniPAC PCX-500

流动相：50 mmol·L^{-1} $HClO_4$—90%乙腈 (A) +水 (B)

梯度冲洗：20%A 5 min，5~14 min 线性梯度冲洗至95%A，14.1 min 平衡冲洗

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：电化学，Pt 工作电极

图 10-247　13 种脂肪族醇的分离谱图 (一)[illegible]

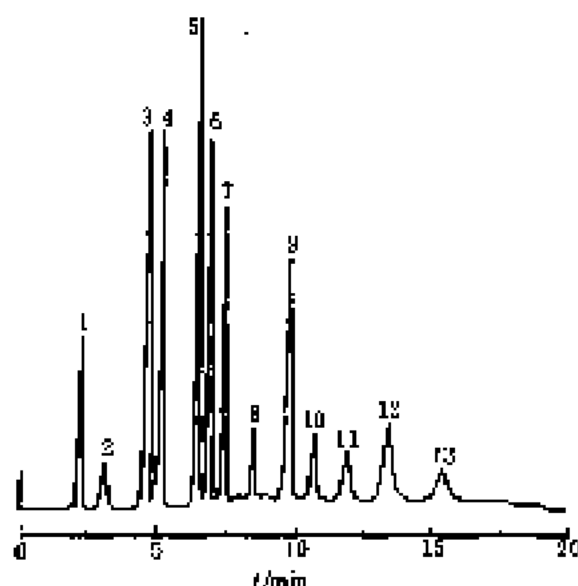


图 10-248　13种脂肪族醇的分离谱图（二）

色谱峰：1—乙醇；2—1-丙醇；3—2-甲基-1-丙醇；4—环戊醇；5—苯甲醇；6—1-苯乙醇；7—3-苯-1-丙醇；8—2-乙基-1-己醇；9—1-癸醇；10—1-十一醇；11—十二醇；12—十三醇；13—十四醇

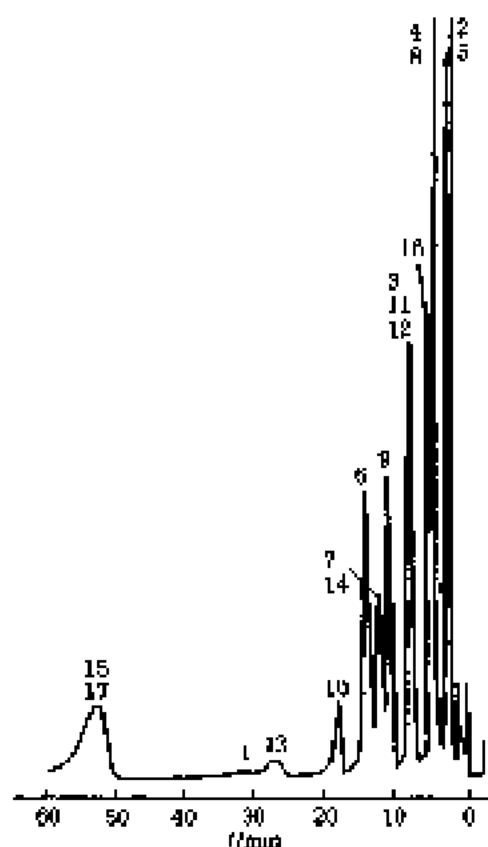
色谱柱：OmniPAC PCX-500

流动相：乙腈+水（梯度洗脱从18%~85.5%乙腈）

　　　　柱后加 0.3 mol·L^{-1} NaOH（1 mL·min^{-1}）

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：电化学 Au 电极



色谱峰：1—卓不哩；2—苯胺；3—丙特拉林；4—咪康平；5—苯胺酸；6—氯苯胺；7—2,6-二甲基苯胺；8—2,4-二硝丙醇；9—2,6-二甲基苯酚；10—二硝甲苯；11—硝苯胺；12—3-甲-4-氯丙酸；13—异丙甲苯胺；14—2-硝基苯酚；15—五氯苯酚；16—弄丙弯弓醇；17—2,4,5-三氯苯酚

色谱柱：25 cm PLRP S 分析柱

流动相：乙腈+乙酸盐缓冲液（pH4.2，50 mmol·L^{-1}）

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）

图 10-249　17种胺类化合物的分离谱图



图 10-250　2-萘酚及其衍生物分离谱图[157]

色谱峰：1—1,2,3,4-四氢-2-萘酚 (59.0 μg)；2—3,4-二氢-6-甲氧基-1 (2H) -萘酮 (1.0 μg)；3—2-萘酚 (1.3 μg)；4—5,6,7,8-四氢-2-萘酚 (17.2 μg)；5—5,6,7,8-四氢-2-甲氧基萘 (6.5 μg)

色谱柱：填充 Chromsil C_{18}，250 mm×4.6 mm (内径)

流动相：乙腈+水 (体积比=60：40)

流　速：1.0 $cm^3 \cdot min^{-1}$

检测器：紫外(274 nm，0.2AUFS)

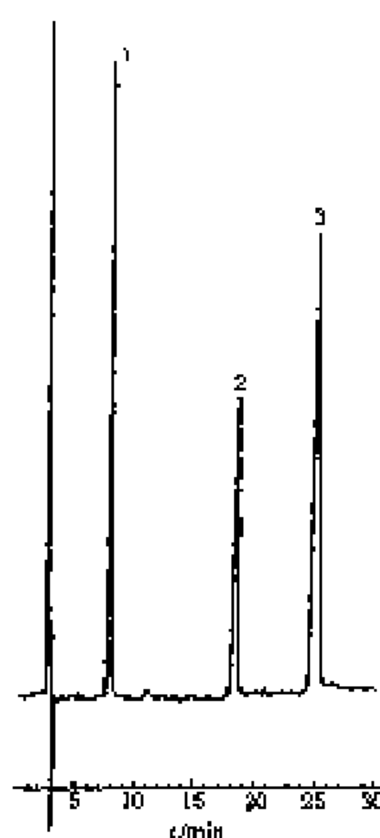


图 10-251　3种红色染料混合物分离谱图[158]

色谱峰：1—苋菜红；2—胭脂红；3—新红

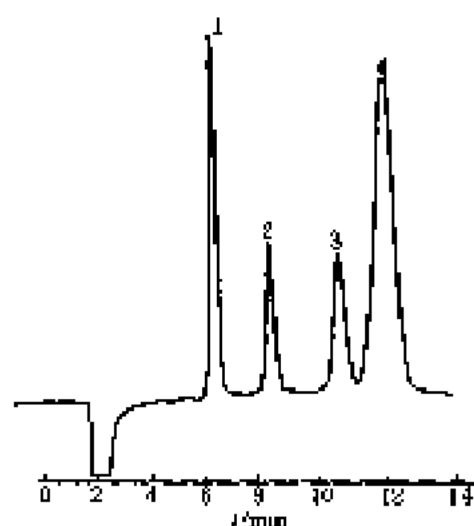
色谱柱：ODS-2Spherisorb，5 μm

柱　温：室温

流动相：水+乙腈 (体积比=70：30)，5.00 mmol·L^{-1}辛胺+磷酸 (pH6.5)

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV (520 nm)



色谱峰：1—琥珀酸；2—戊二酸；3—己二酸；4—邻苯二甲酸

色谱柱：Wescan Anion Exclusion 磺酸化聚苯乙烯，10.0 cm×4.6 mm (内径)，10~12 μm

流动相：1 mmol·L^{-1}硫酸

流　速：1.2 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：电导

图 10-252　4种二元酸分离谱图[159]

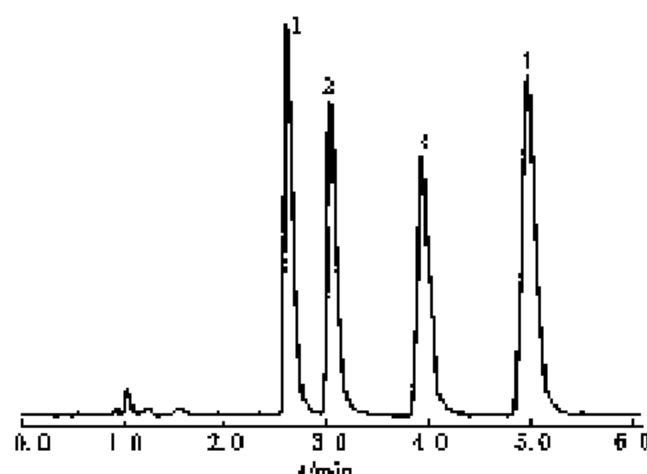


图 10-253　4种亚甲基二氧化苯异丙胺分离谱图

色谱峰：1—亚甲基二氧苯异丙胺；2—亚甲基二氧甲苯异丙胺；3—亚甲基二氧乙苯异丙胺；4—N-甲基-1-(1,3-苯二氧)-2-丁胺

色谱柱：C_{18} AB Nucleosil 100，125 mm×4 mm（内径），5 μm

流动相：NaH_2PO_4(pH3.8)+乙腈（体积比 85：15）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光检测，λ_{ex}=285 nm，λ_{em}=320 nm

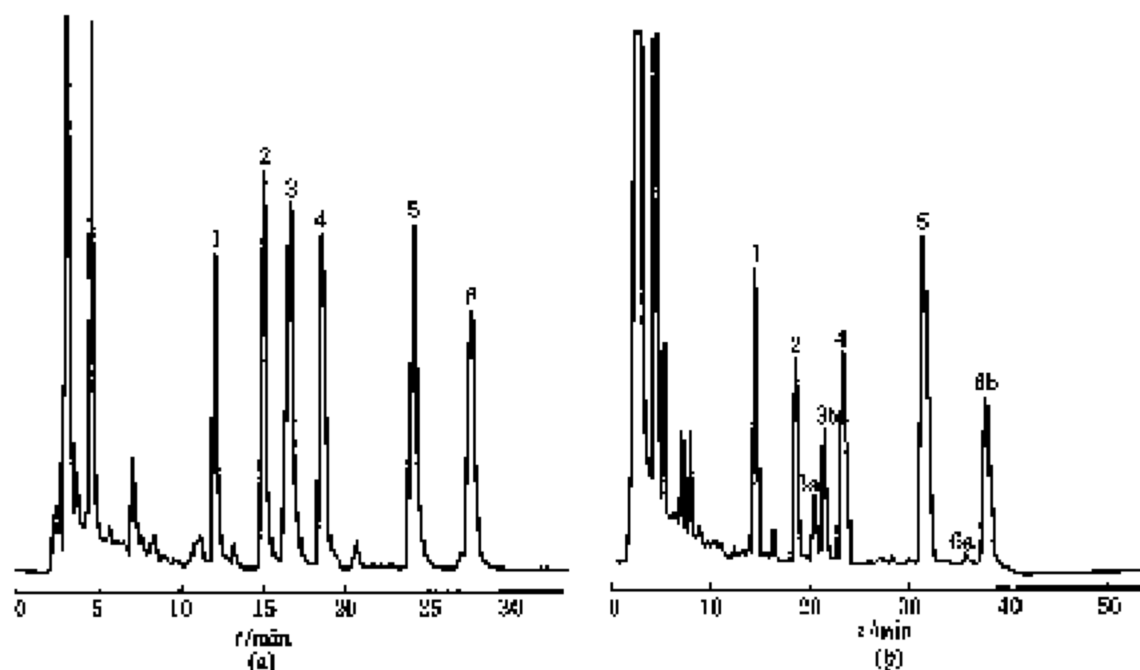


图 10-254　6种变性毒素标准样（NBD-F衍生化）分离谱图

色谱峰：1—NBD-环氧变性毒素-a；2—NBD-变性毒素-a；3—NBD-二氢变性毒素-a；4—NBD-环氧高变性毒素-a；5—NBD-高变性毒素-a；6—NBD-二氢高变性毒素-a

色谱柱：(a) Ultremex C_{18}，250 mm×3.2 mm，5 μm；

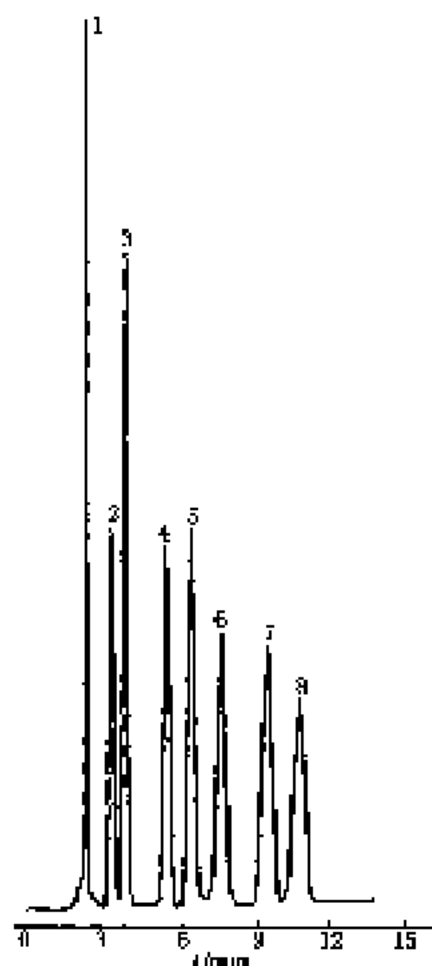
(b) Prodigy C_{18}，250 mm×3.2 mm，5 μm

柱　温：35°C

流动相：乙腈+水（体积比=45：55）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=470 nm，λ_{em}=530 nm）



色谱峰：1—乙酰磺胺；2—磺胺醋酰；3—磺胺嘧啶；4—新诺明；5—磺胺甲基噻唑；6—磺胺对甲基嘧啶；7—磺胺甲基嘧啶；8—磺胺二甲嘧啶

色谱柱：Inertsil ODS-2，150 mm×4.6 mm，5 μm

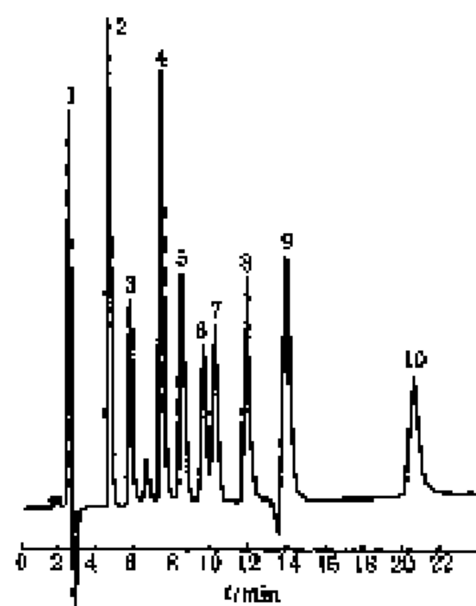
柱　温：室温

流动相：30%甲醇+0.10 mol·L^{-1} pH5.6乙酸盐缓冲溶液

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV

图10-255　7种胺分离谱图[illegible]



色谱峰：1—甲醇；2—苯酚；3—甲酚；4—苯乙酮；5—苯甲醚；6—甲基苯甲酸酯；7—甲苯；8—溴苯；9—对二甲苯；10—丙苯

色谱柱：phenylmethyl柱，250 mm×4.0 mm（内径）

流动相：甲醇+水(60+40)

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：紫外(254 nm)

图10-256　9种芳烃化合物分离谱图[illegible]

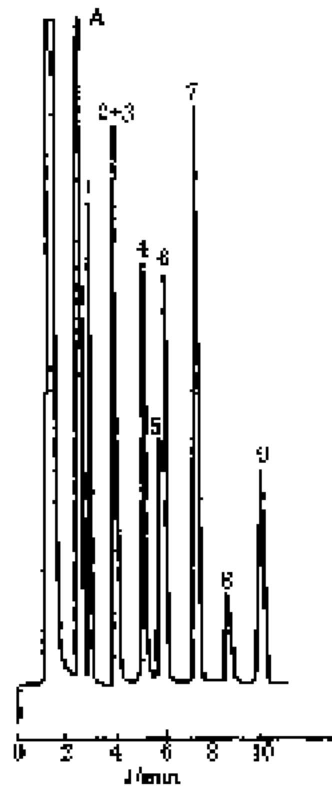


图 10-257 C_1～C_4 胺的分离谱图[182]

色谱峰：1—甲胺；2，3—乙胺和二甲胺；4—烯丙胺；5—异丙胺；6—正丙胺；7—1，2-二乙胺；8—二乙胺；9—正丁胺

色谱柱：不锈钢 Spherisorb C_{18}，250 mm×4 mm，5 μm

流动相：乙腈／水（体积比＝40：60）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

泵：Tesco 型 680Pu

检测器：UV(250 nm)



图 10-259 HSAA 衍生物的分离谱图[184]

色谱峰：1—Gly；2—N-甘氨酰甘氨酸；3—HSAA；4—Glu；5—三甘肽；6—HSAA-OH；7—Lys；8—谷胱甘肽

色谱柱：Spherisorb C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈／水＋三乙胺（体积比＝38：60：2），内含 20 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$(pH7.0)

检测器：荧光

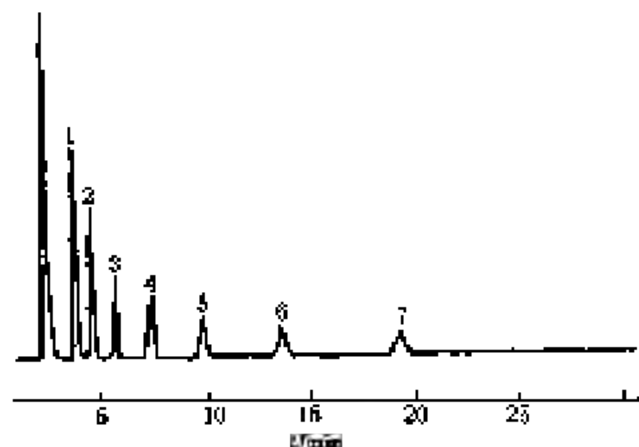


图 10-258 C_5～[illegible] 正构烷烃的分离谱图[183]

色谱峰：1—C_5；2—[illegible]；3—[illegible]；4—[illegible]；5—[illegible]；6—[illegible]；7—[illegible]

色谱柱：Hypersil ODS C_{18}硅胶载体，150 mm×4.6 mm，5 μm

流动相：乙腈／水（体积比＝60：40）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：二极管矩阵 UV(240 nm)

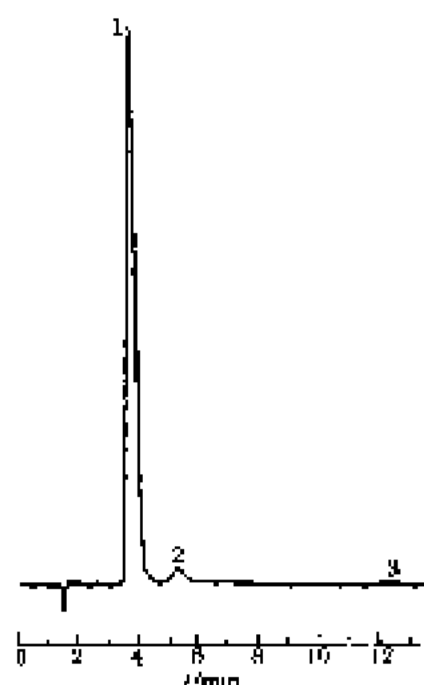


图 10-260　$NaB_{12}H_{11}SH$ 氧化样品分离谱图[184]

色谱峰：1—$[B_{12}H_{11}SH]^{2-}$；2—$[B_{12}H_{11}SSB_{12}H_{11}]^{4-}$；3—$[B_{12}H_{11}S(O)SB_{12}H_{11}]^{4-}$

色谱柱：Separon HEMA-BIO 300，150 mm×3.3 mm（内径），10 μm

柱　温：40℃

洗脱剂：0.1 mol·L^{-1} $NaClO_4$ + 0.01 mol·L^{-1} 磷酸盐缓冲液（pH8.5）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV(204 nm)

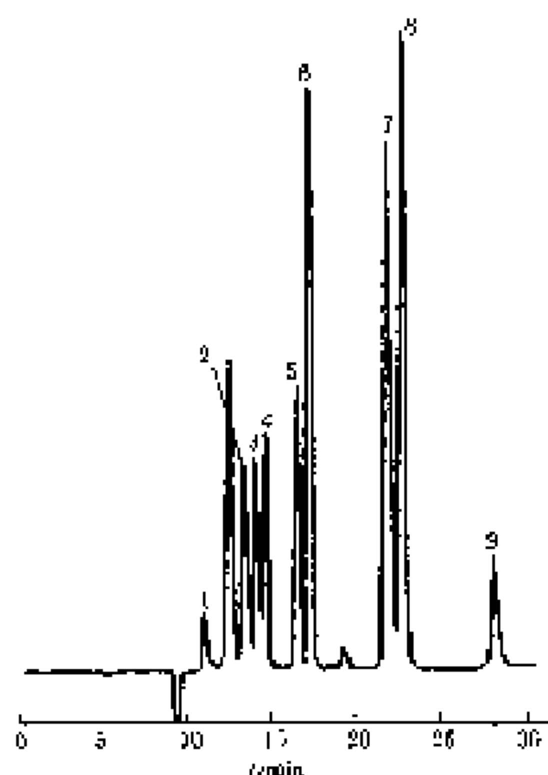


图 10-262　三羧酸循环中羧酸的分离谱图[185]

色谱峰：1—顺乌头酸；2—草酰乙酸；3—柠檬酸；4—α-酮戊二酸；5—丙酮酸；6—苹果酸；7—乳酸；8—琥珀酸；9—富马酸

色谱柱：相互作用 BC8201，磺酸化聚苯乙烯-二乙烯苯，30 cm×7.8 mm（内径），8 μm

流动相：0.009 mol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：0.4 ml·min^{-1}

温　度：42℃

检测器：折射率（16X）

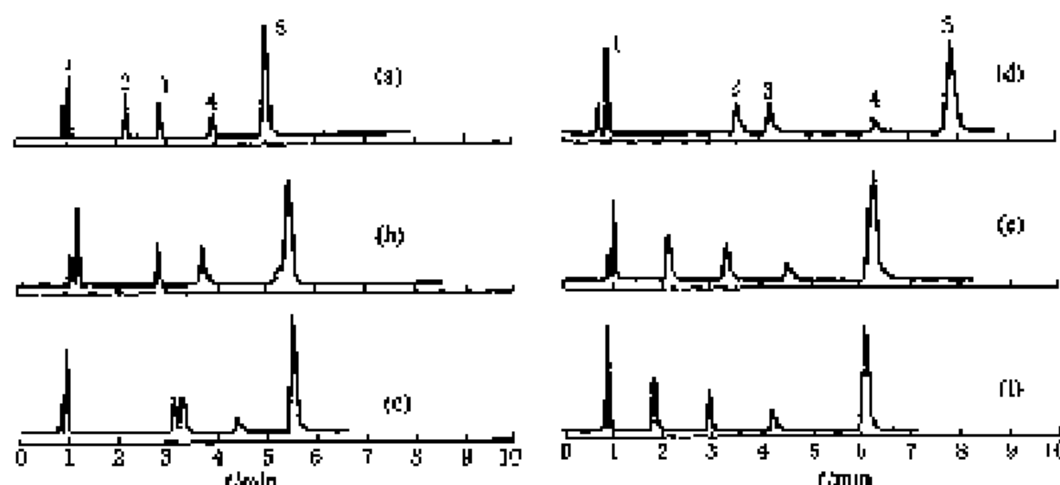


图 10-261　三环抗抑郁剂混合物分离谱图[186]

色谱峰：1—尿嘧啶；2—多塞平；3—去甲替林；4—阿米替林；5—曲米帕明

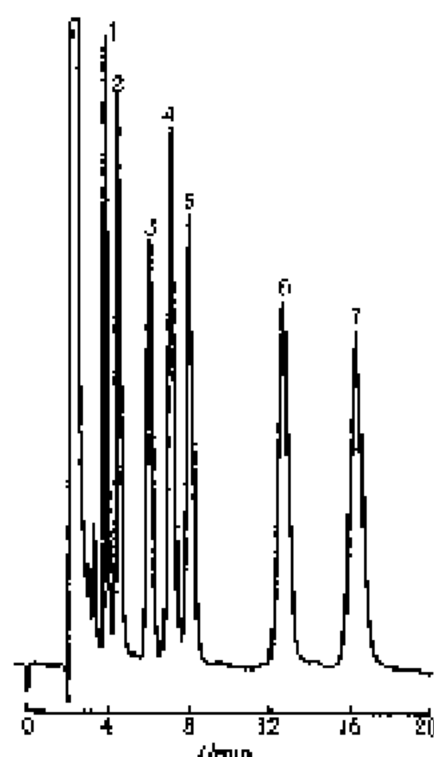
色谱柱：15 cm×0.46 cm（内径）(a) HYPERSIL BDS-C_8 (5 μm)；(b) INERTSIL C_8 (5 μm)；(c) SUPELCOSIL ABZ+，5 μm；(d) SYMMETRY-C_8，5 μm；(e) YMC-BASIC ZORBAX，5 μm；(f) XDB-C_8，5 μm

柱　温：40℃

流动相：乙腈/0.02 mol·L^{-1} 磷酸钠缓冲液（pH7.0）（体积比=60:40）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV



色谱峰：1—苯丙醇胺；2—麻黄碱；3—奥沙明；4—甲基麻黄碱；5—羟基苯异丙胺；6—降麻黄碱；7—肾上腺素

色谱柱：填充5 μm Hypersil ODS C_{18}硅胶，300 mm×3.9 mm（内径）

保护柱：填充30~40 μm Co：Pell C_{18}，70 mm×2.1 mm（内径）

流动相：甲醇+水+乙酸+TEA（体积比=70：28：1.5：0.5）

检测器：可变波长（λ=254 nm，或335 nm）

图10-263 丹磺酰衍生物分离谱图（一）[205]

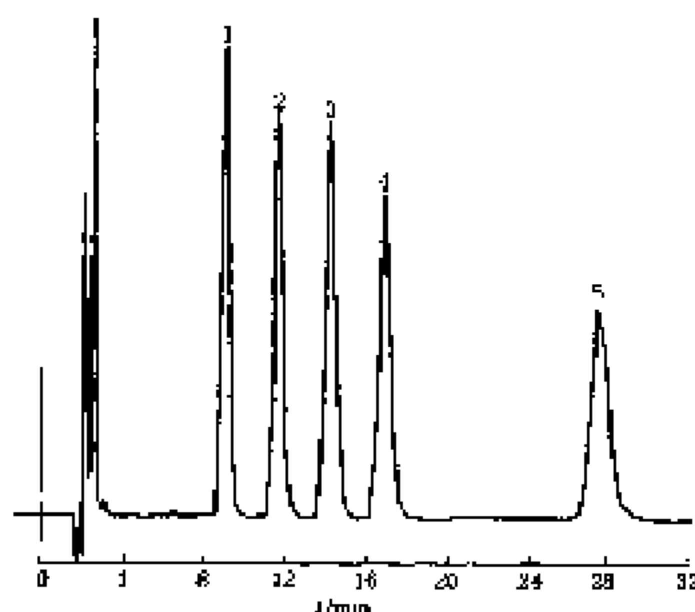


图10-264 丹磺酰衍生物分离谱图（二）[205]

色谱峰：1—苯丙醇胺；2—麻黄碱；3—伪麻黄碱；4—苯异丙胺；5—甲氧麻黄碱

色谱柱：填充Hypersil ODS C_{18}硅胶，300 mm×3.9 mm（内径），5 μm

保护柱：填充Co：Pell C_{18}，(30~40) μm，70 mm×2.1 mm（内径）

流动相：甲醇+水+乙酸+TEA（体积比=60：38：1.5：0.5）

检测器：UV（254，335 nm）



图 10-265　孔状石墨柱上胺的衍生物分离谱图

色谱峰：1—苯胺；2—2-甲氧基苯胺；3—o-氯苯胺；4—o-溴苯胺；5—o-硝基苯胺；6—3-硝基苯胺；7—4-硝基苯胺

色谱柱：孔状石墨碳，7 μm，100 mm×4.7 mm（内径）

流动相：(a) 甲醇+水（95+5）；(b) 甲醇+水（97.5+2.5）

流　速：1 mL·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

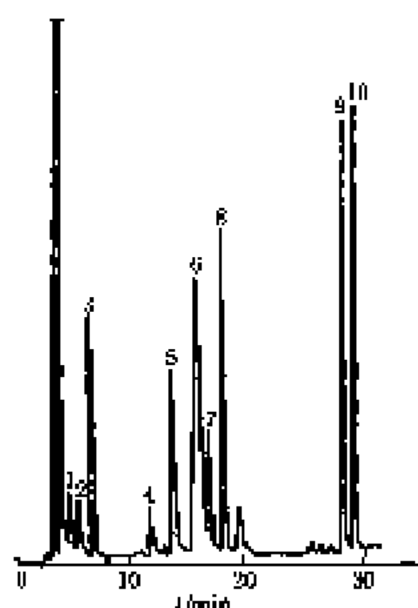


图 10-266　叶酸及其降解产物分离谱图

色谱峰：1—蝶呤；2—蝶呤-6-羧酸；3—对氨基苯甲酰基谷氨酸；4—四氢叶酸；5—5-甲基四氢叶酸钠；6—5-甲酰基四氢叶酸钙；7—二氢叶酸；8—蝶酰谷氨酸；9—氨甲蝶呤；10—3'，5'-二氯叶酸

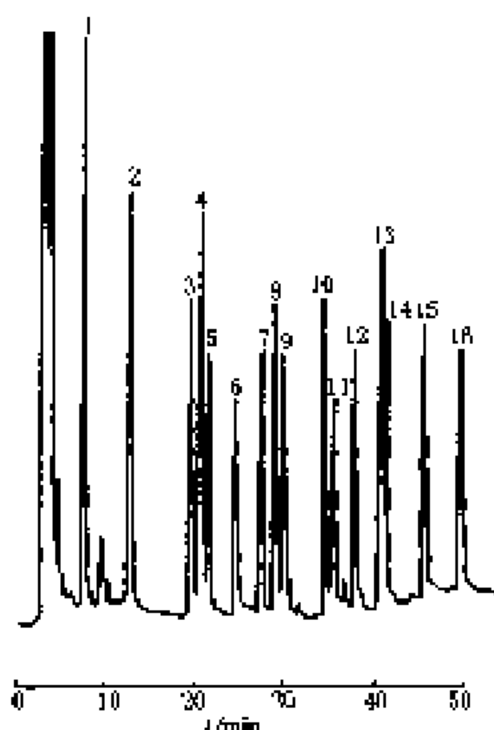
色谱柱：Shandon Hypersil ODS，(250 mm×4.6 mm)（内径），3 μm

流动相：5 mmol·L⁻¹磷酸（pH2.3）+乙腈

流　速：0.9 mL·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV(285 nm)



色谱峰：1—癸酸；2—月桂酸；3—肉豆蔻脑酸；4—亚麻酸；5—棕榈油酸；6—豆蔻酸；7—棕榈酸；8—油酸（顺-$C_{18:1}$）；9—反油酸（反-$C_{18:1}$）；10—硬脂酸；11—二十碳烯酸；12—十九烷酸（内标）；13—花生酸；14—芥酸；15—山嵛酸；16—二十四烷酸

色谱柱：Nucleosil

流动相：甲醇-磷酸盐缓冲液（70%～96%甲醇）

检测器：UV（213 nm）

图 10-267　脂肪酸的酯衍生物分离谱图

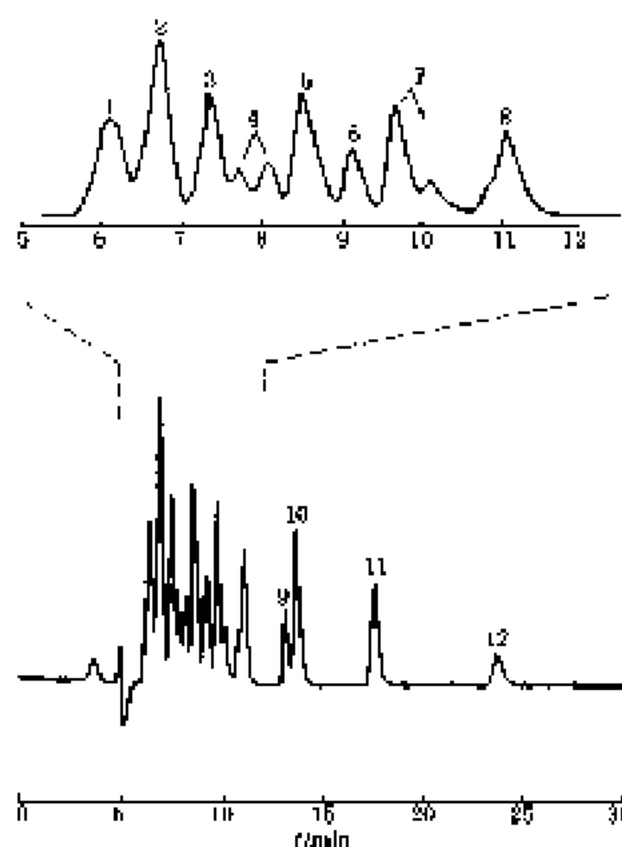


图 10-268　平面和非平面多氯联苯分离谱图[135]

色谱峰：1—1，8，50，104，188，201，204，206；2—8，18，29，104，154；3—28，52，101，187；4—44，101，153，187，198；5—66，87，200；6—138，180，195；7—118，128，170，194，195；8—105，170；9—127；10—77；11—126；12—169。（根据IUPAC对多氯联苯的编号规则）

色谱柱：键合碳柱

流动相：戊烷

柱　温：0℃

检测器：UV(254 nm)

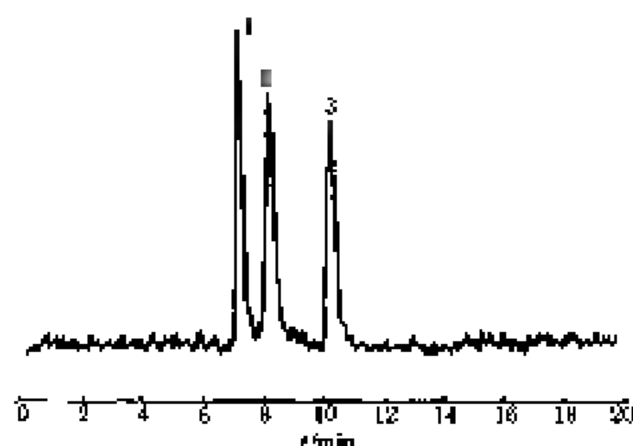


图 10-269　合成螯合剂的^{59}Fe配合物的分离谱图[136]

色谱峰：1—乙二胺四乙酸（7 nmol）；2—二乙基三胺五乙酸（30 nmol）；3—1，2-二氨基环己烷-N，N，N′，N′-四乙酸（30 nmol）

色谱柱：Ultracarb ODS（C18）30（Phenomenex），5 μm，15 cm×4.6 mm

流动相：A 100%水；B 75%乙腈水溶液+p—1%乙酸

梯度洗脱：20 min内0%B到100%B

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：^{59}Fe在线闪烁计数

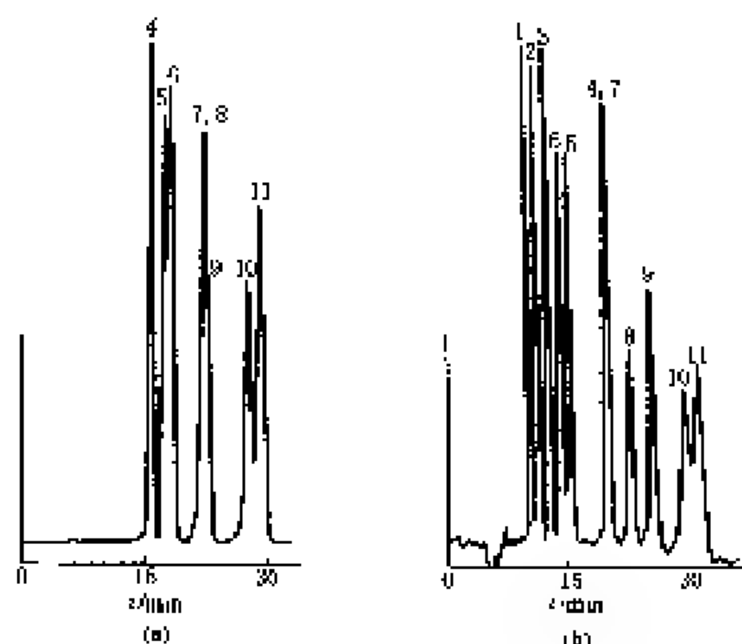


图 10-270　多元醇类分离谱图（一）

色谱峰：1—甘油；2—1,2-亚乙基二醇；3—丙二醇；4—肌醇；5—核糖醇；6—赤藓醇；7—阿拉伯醇；8—甘露糖醇；9—木糖醇；10—半乳糖醇；11—山梨醇

色谱柱：Hamilton HC-75 磺化苯乙烯 styrene（钙型），10～15 μm，30.5 cm×7.8 mm（内径）

流动相：(a) 水；(b) 乙腈+水（40∶60）

流　速：0.6 ml·min⁻¹；0.1 ml·min⁻¹

温　度：(a) 80℃；(b) 78℃

检测器：折射率

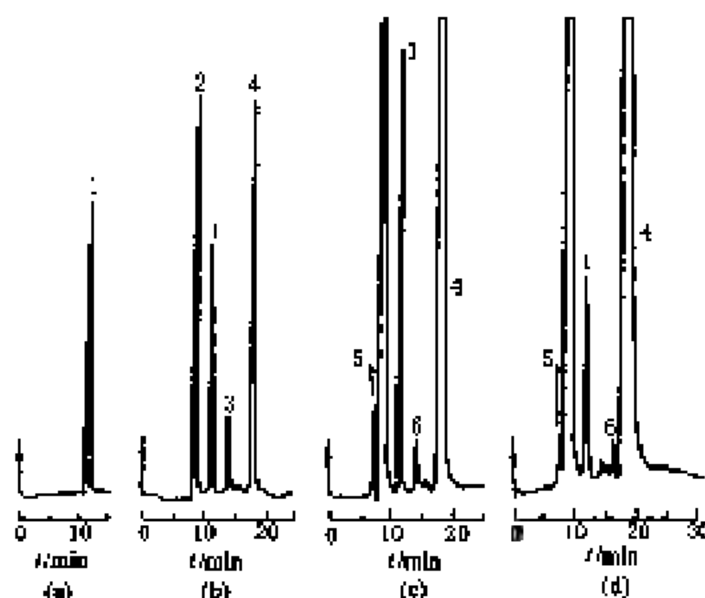


图 10-271　多元醇类分离谱图（二）

色谱峰：1—甘油；2—山梨醇；3—丙二醇；4—乙醇；5—果糖；6—甲醇

色谱柱：OmniPAC PAX-500

流动相：50 mmol·L⁻¹ $HClO_4$—90%乙腈（A）—水（B）

线性洗脱：80%A 5 min，(5→14) min 线性梯度淋洗至 95%A，14.1 min 平衡淋洗

流　速：0.8 ml·min⁻¹

检测器：电化学，Pt 工作电极

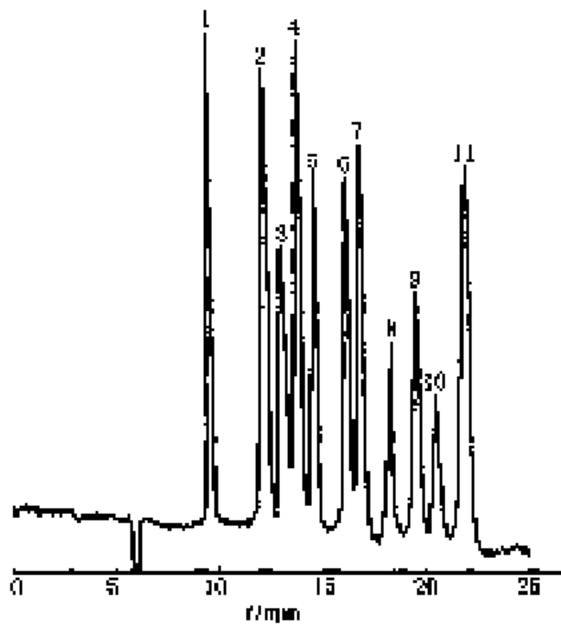


图 10-272　有机酸、糖和醇分离谱图[18]

色谱峰：1—蔗糖；2—葡萄糖；3—柠檬酸；4—果糖；5—酒石酸；6—苹果酸；7—甘油；8—乙酸；9—乳酸；10—甲醇；11—乙醇

色谱柱：相互作用 IC9201-磺酸化聚苯乙烯-二乙烯苯，30 cm×7.8 mm（内径），8 μm

流动相：0.01 mol·L⁻¹ H_2SO_4

流　速：0.5 ml·min⁻¹

温　度：37℃

检测器：折射率(1X)

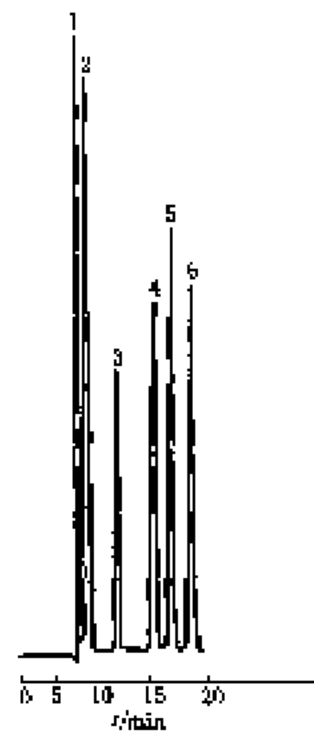


图 10-273　有机酸分离谱图（一）[22]

色谱峰：1—草酸；2—马来酸；3—苹果酸；4—琥珀酸；5—甲酸；6—乙酸

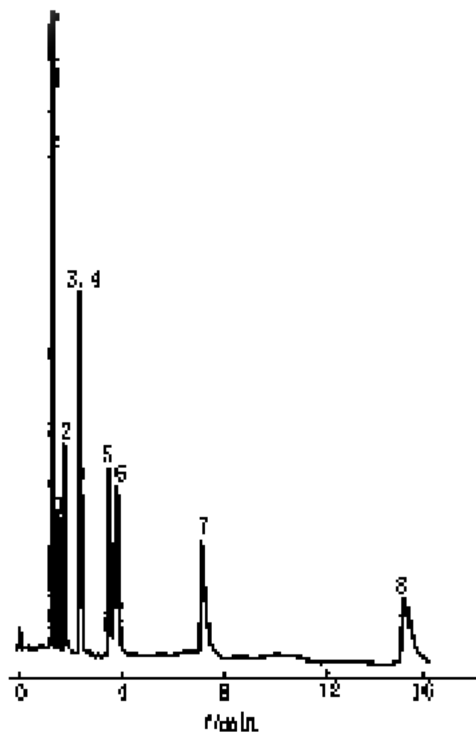
色谱柱：Waters Anion Exchanger 磺酸化聚苯乙烯，30.0 cm×7.8 mm（内径），5 μm

流动相：0.001 mol·L⁻¹ H_2SO_4

流　速：0.6 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：电导



色谱峰：1—乙酸；2—丙酸；3—异丁酸；4—丁酸；5—异戊酸；6—戊酸；7—己酸；8—庚酸

色谱柱：ChromSep柱（Chrompack）Chrom Spher C_{18}键合十八烷基硅，20 cm×3 mm（内径），5 μm

流动相：甲醇+0.08 mol·L⁻¹ KH_2PO_4(pH2.5)（体积比=50∶50）等度冲洗

流　速：0.6 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：折射率(1X)

图 10-274　有机酸分离谱图（二）[22]

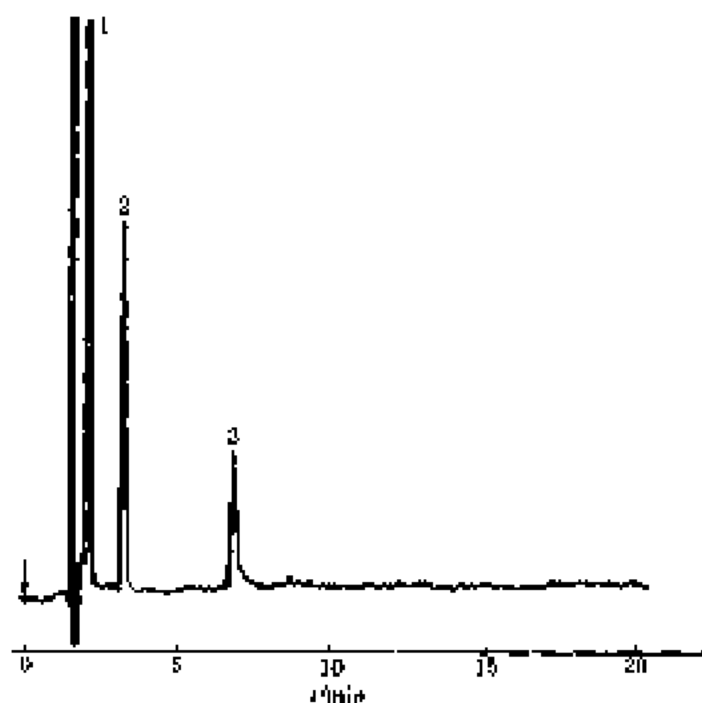


图 10-275　有机酸分离谱图（三）[284]

色谱峰：1—乙酸；2—丙酸；3—丁酸

色谱柱：ChromSpher 柱(Chrompack) ChromSpher C_{18}(Chrompack)，键合十八烷基硅，20.0 cm×3 mm（内径），5 μm

流动相：甲醇+0.02 mol·L^{-1} KH_2PO_4（pH2.5）(体积比=20：80)

流　速：0.6 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：折射率

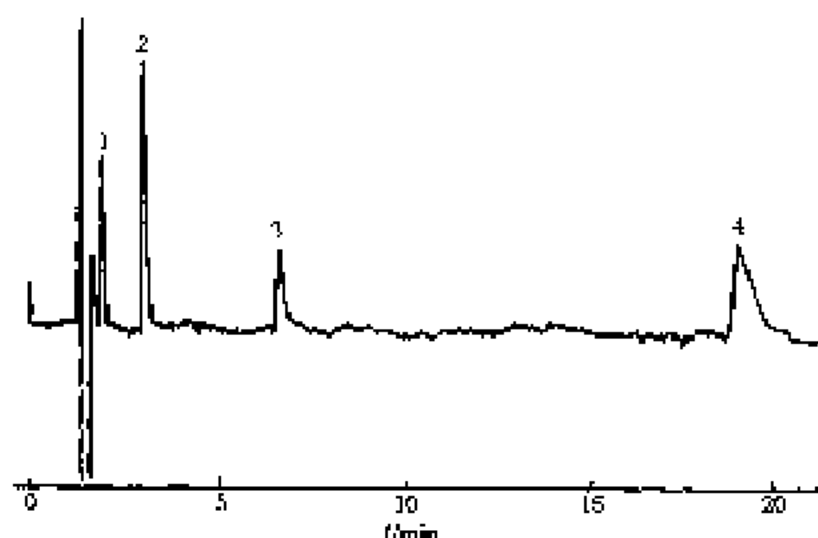


图 10-276　有机酸分离谱图（四）[284]

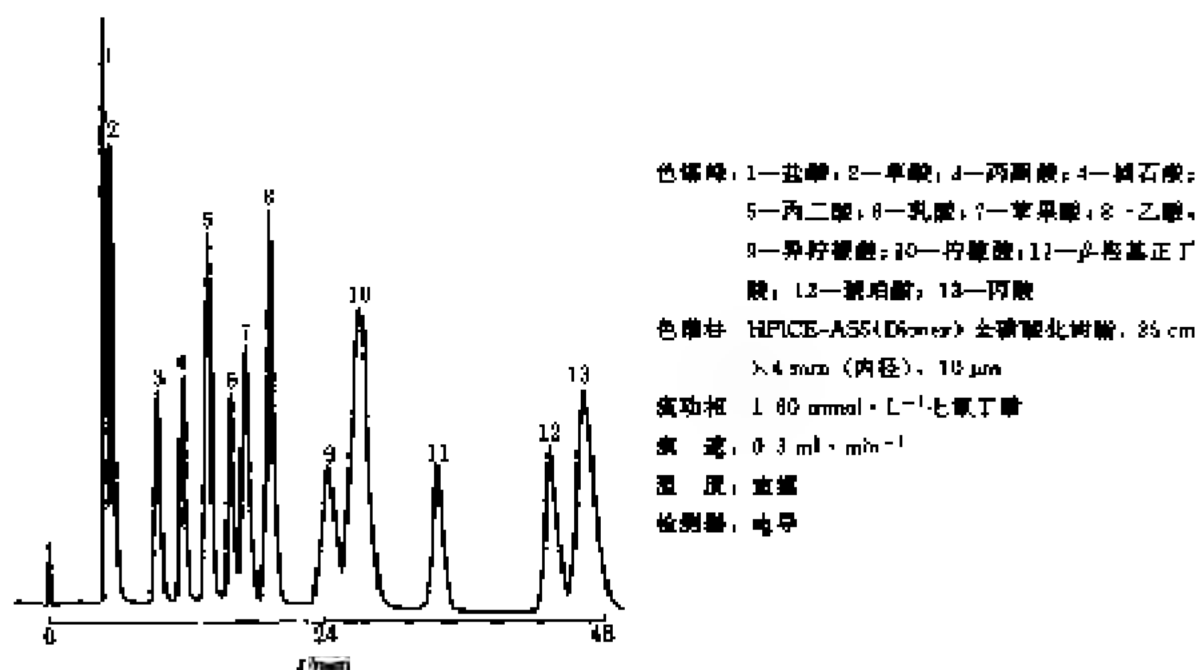
色谱峰：1—乙酸；2—丙酸；3—丁酸；4—戊酸

色谱柱：ChromSep 柱（Chrompack）Chrom-Spher C_{18}(Chrompack)，键合十八烷基硅，20.0 cm×3 mm（内径），5 μm

流动相：甲醇+0.02 mol·L^{-1} KH_2PO_4(pH2.5)(体积比=20：80)

流　速：0.6 ml·min^{-1}

检测器：折射率（1X）



色谱峰：1—盐酸；2—草酸；3—丙酮酸；4—酒石酸；5—丙二酸；6—乳酸；7—苹果酸；8—乙酸；9—异柠檬酸；10—柠檬酸；11—β-羟基正丁酸；12—琥珀酸；13—丙酸

色谱柱：HPICE-AS5(Dionex)全磺酸化树脂，25 cm×4 mm（内径），10 μm

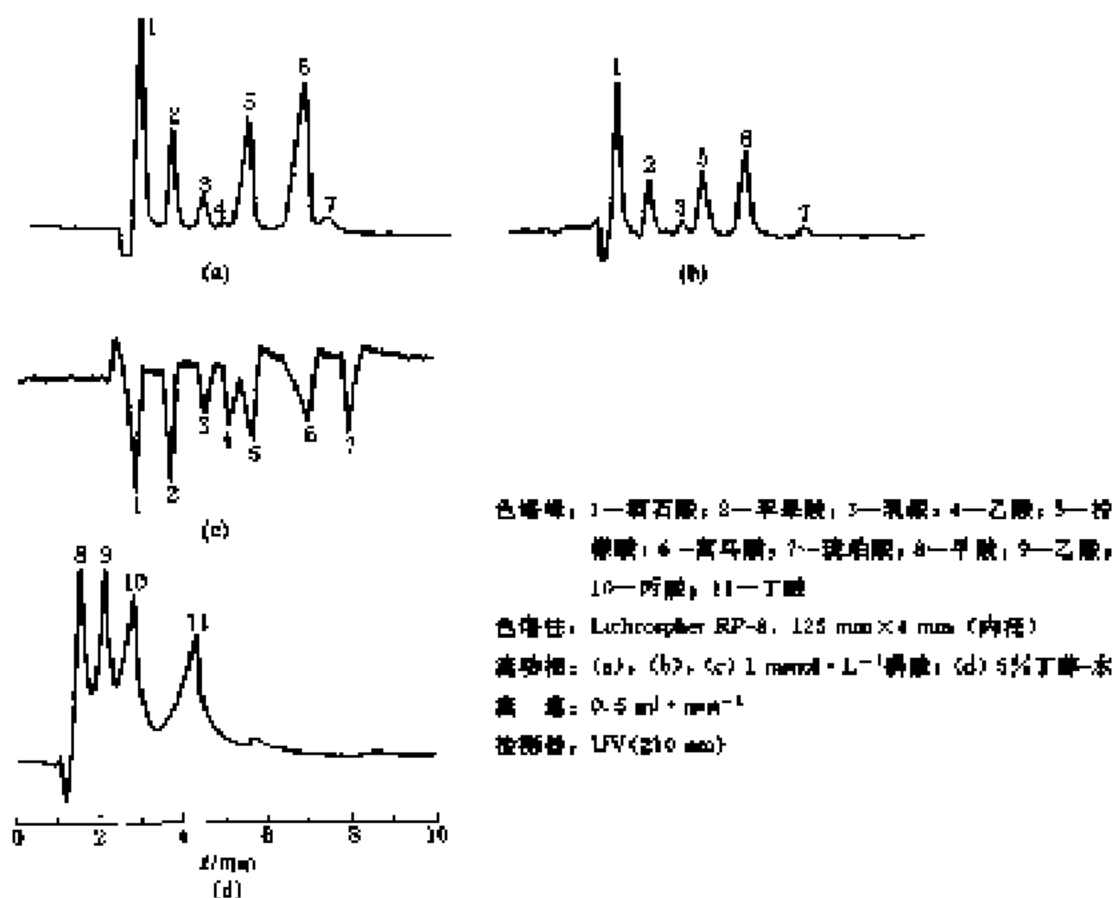
流动相：1.60 mmol·L⁻¹七氟丁酸

流　速：0.3 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：电导

图 10-277　有机酸分离谱图（五）[illegible]



色谱峰：1—酒石酸；2—苹果酸；3—乳酸；4—乙酸；5—柠檬酸；6—富马酸；7—琥珀酸；8—甲酸；9—乙酸；10—丙酸；11—丁酸

色谱柱：Lichrospher RP-8，125 mm×4 mm（内径）

流动相：(a)、(b)、(c) 1 mmol·L⁻¹硫酸；(d) 5%丁醇-水

流　速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：UV(210 nm)

图 10-278　有机酸分离谱图（六）[illegible]

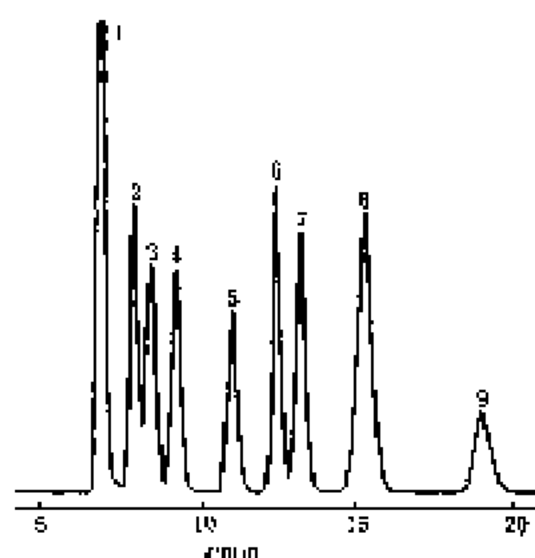


图 10-279　有机酸分离谱图（七）[illegible]

色谱峰：1—草酸；2—柠檬酸；3—α-酮戊二酸；4—苹果酸；5—琥珀酸；6—甲酸；7—乙酸；8—富马酸；9—丁酸

色谱柱：多孔 H（Applied Biosystems）磺酸化聚苯乙烯-二乙烯苯，23.0 cm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：0.05 mol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：0.15 ml·min^{-1}

温　度：35℃

检测器：UV(210 nm)

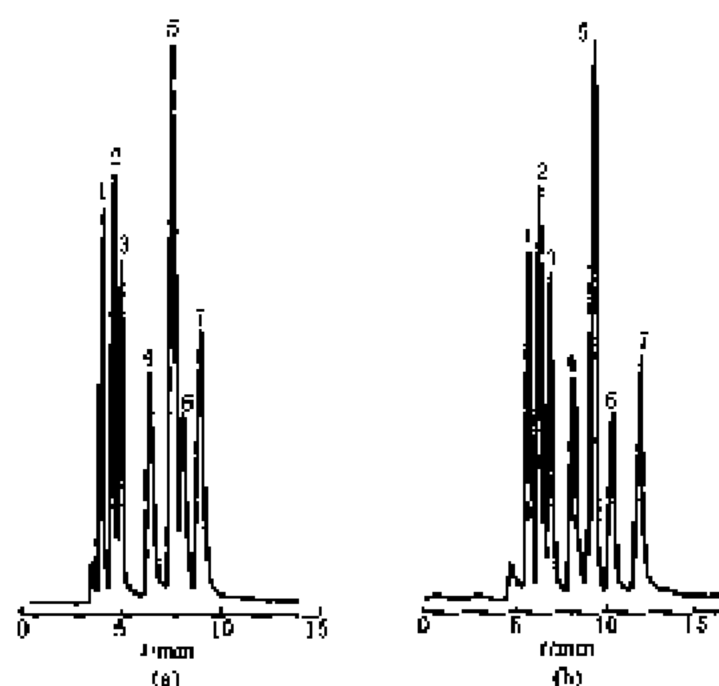


图 10-280　有机酸分离谱图（八）[illegible]

(a) 反相柱；(b) 反相柱与离子排阻柱相联接

色谱峰：1—奎尼酸；2—苹果酸；3—丙二酸；4—马来酸；5—柠檬酸；6—琥珀酸；7—富马酸

色谱柱：ODS 250 mm×4.6 mm（内径）和多孔 H 柱 100 mm×4.6 mm（内径）多孔 H 柱填充磺化聚苯乙烯-二乙烯基苯

　　　　前者 ODS-C-18 键合球形多孔硅胶，5 μm

保护柱：ODS Spheri-7 筒型，15 mm×3.2 mm（内径）

　　　　多孔 H 保护柱，30 mm×4.6 mm（内径）

流动相：H_2SO_4(pH2.10)

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：分光光度

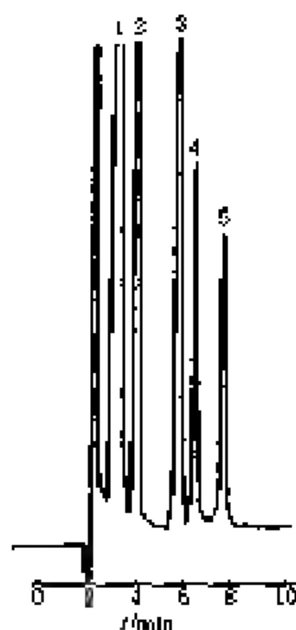


图 10-281　有机酸标准样谱图[240]

色谱峰：1—柠檬酸，酒石酸；2—苹果酸；3—乳酸；4—甲酸；5—乙酸

色谱柱：Wescan Anion Exclusion 磺酸化聚苯乙烯，30.0 cm×7.8 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

流动相：3.0 mmol·L^{-1} HNO_3

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导

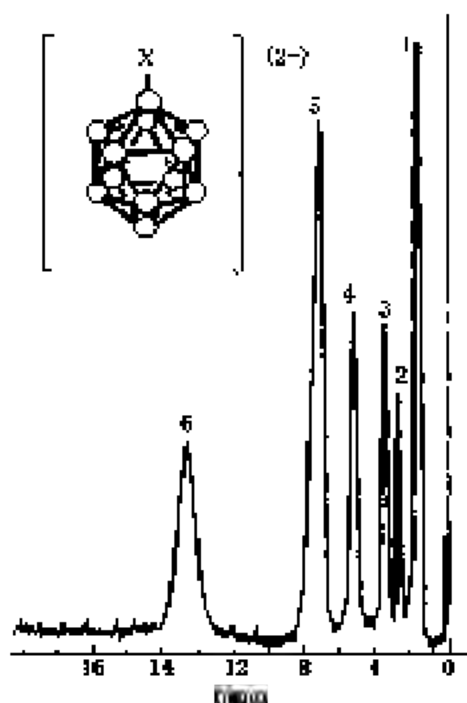


图 10-282　闭合型-$[B_{12}H_{12}]^{2-}$阴离子及其取代衍生物分离谱图[119]

色谱峰：1—$[B_{12}H_{11}OH]^{2-}$；2—$[B_{12}H_{12}]^{2-}$；3—$[B_{12}H_{11}SH]^{2-}$；4—$[B_{12}H_{11}Cl]^{2-}$；5—$[B_{12}H_{11}Br]^{2-}$；6—$[B_{12}H_{11}I]^{2-}$

色谱柱：Separon HEMA-BIO 300，150 mm×3.3 mm（内径），12 μm

柱　温：40℃

流动相：0.1 mol·L^{-1} $NaClO_4$+0.01 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液(pH8.5)

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV(225 nm)

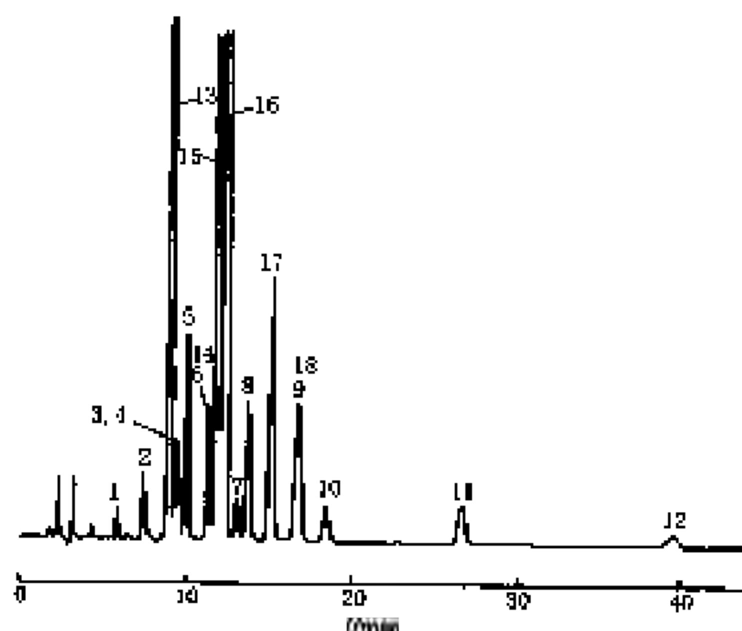


图 10-283 芳烃混合样品的分离谱图[309]

色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—邻二甲苯；4—间、对二甲苯；5—乙苯；6—异丙基苯；7—1，3，5-三甲基苯；8—正丙基苯；9—仲丁基苯；10—正丁基苯；11—正戊基苯；12—正己基苯；13—萘；14—联苯；15—1-甲基萘；16—2-甲基萘；17—菲；18—蒽

色谱柱：Develosil ODS，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈＋水（70＋30）

检测器：UV(250 nm)

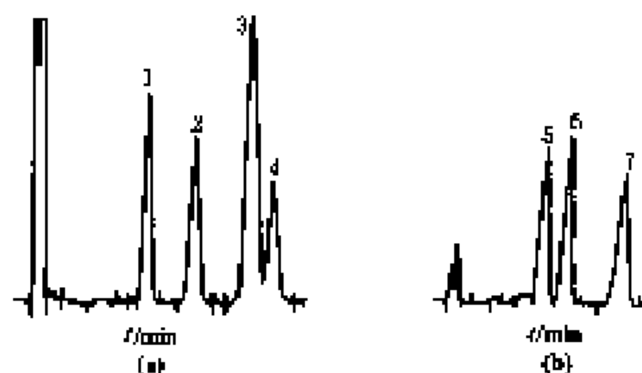


图 10-284 芳香族甲氧酸分离谱图[310]

(a) 芳香族单甲氧酸；(b) 芳香族多甲氧酸

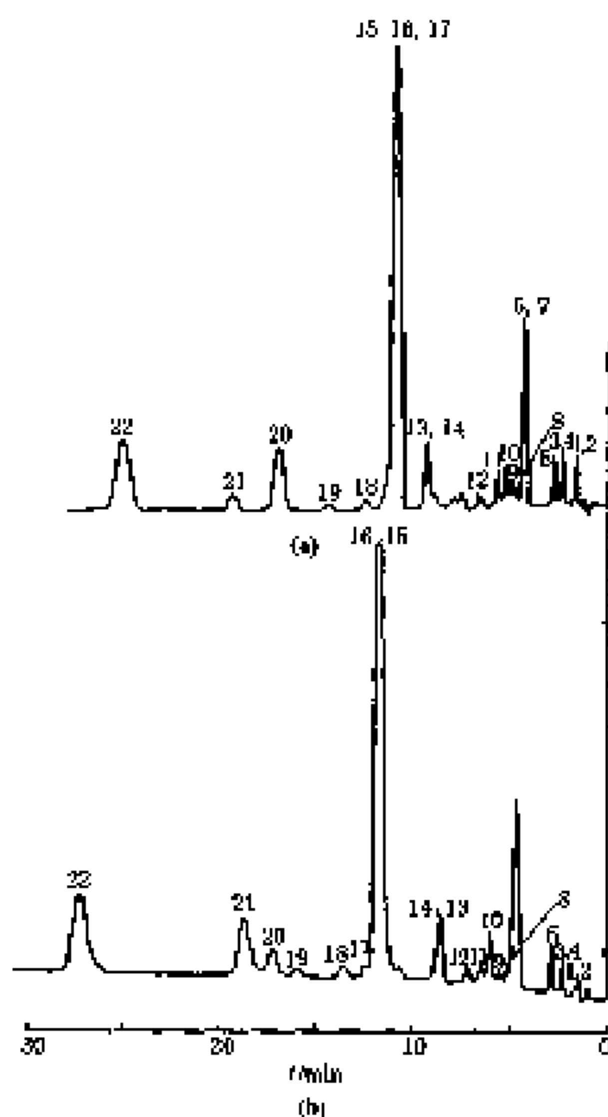
色谱峰：1—o-甲氧苯甲酸；2—苯甲酸；3—4-甲氧苯甲酸；4—3-甲氧苯甲酸；5—2，4-二甲氧苯甲酸；6—3，4-二甲氧苯甲酸；7—3，4，5-三甲氧苯甲酸

色谱柱：Nucleosil，200 mm×4 mm，5 μm

流动相：乙腈＋0.1 mol・L^{-1}磷酸盐（pH2）（体积比＝20：80）

流 速：1.5 ml・min^{-1}

检测器：UV(240 nm)



色谱峰：1—3,5-二羟基苯甲酸；2—3,4-二羟基苯甲酸；3—3,4-二羟基苯甲醛；4—4-羟基苯甲酸；5—糠醛；6—香草醛；7—异香草醛；8—7-羟基香豆素；9—2,4-羟基苯甲醛；10—苯酚；11—4-羟基香豆素；12—3-甲氧基苯酚；13—3-乙氧基-4-羟基苯甲醛；14—3,5-二甲氧基苯酚；15—4-硝基苯酚；16—香豆素；17—苯甲醛；18—甲苯酚；19—2-氯苯酚；20—肉桂酸；21—3-甲氧基苯甲醛；22—肉桂醛

色谱柱：LiChrospher 100 RP 18，125 mm×4.0 mm(内径)

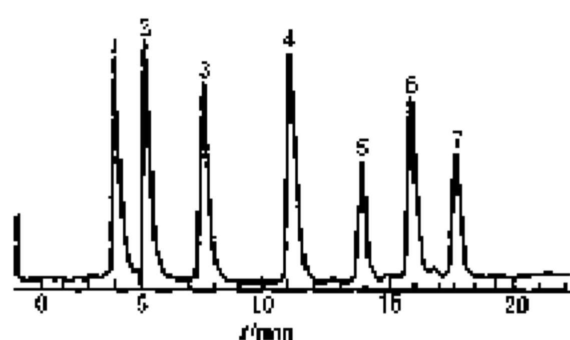
流动相：(a) 乙腈＋乙酸盐缓冲液（50 mmol·L^{-1}，pH5）（体积比＝22∶78）

(b) 乙腈＋乙酸盐缓冲液（50 mmol·L^{-1}，pH4）（体积比＝20∶80）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV(280 nm)

图 10-286　芳香族醛、酸分离谱图[illegible]



色谱峰：1—C_8OOH；2—C_9OOH；3—$C_{10}OOH$；4—$C_{12}OOH$；5—$C_{14}OOH$；6—$C_{16}OOH$；7—$C_{18}OOH$

色谱柱：RPselect-B RP-8，125 mm×4 mm，5 μm

柱　温：室温

流动相：80%甲醇-H_3PO_4（pH3.5），线性冲洗到95%甲醇 8.5 min

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：荧光检测器（λ_{ex}＝295 nm，λ_{em}＝415 nm）

图 10-286　直链烷烃氢过氧化物梯度洗脱谱图[illegible]

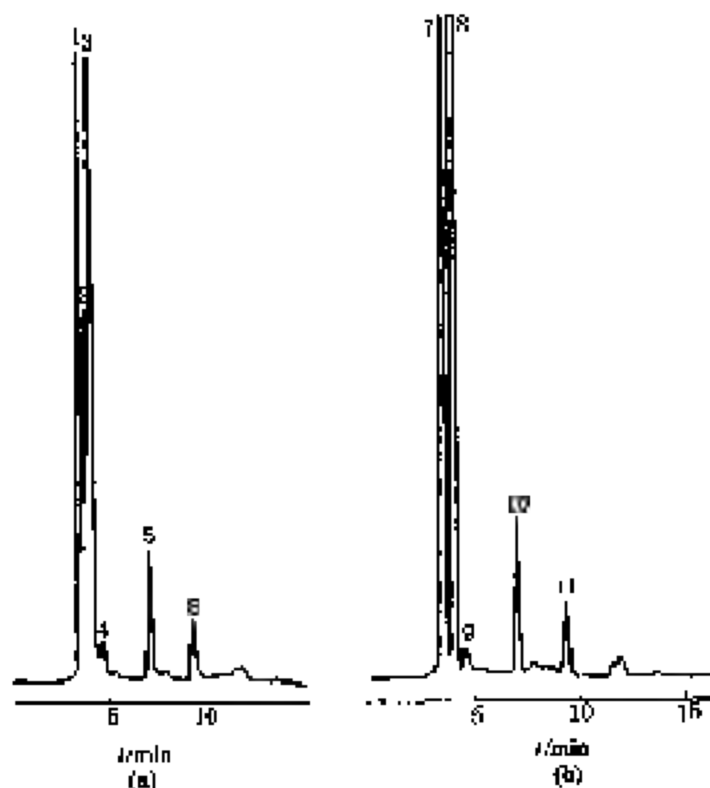


图 10-287 季戊四醇及相关化合物分离谱图[230]

色谱峰：1—甲酸钠；2—甲醛；3—一季戊四醇；4—$(HOCH_2)_3CCH_2$ 基代季戊三醇；5—二季戊四醇；6—$(HOCH_2)_3CCH_2$ 基代内环化季戊醇；7—甲酸钠；8—一季戊四醇；9—$(HOCH_2)_3CCH_2$ 基代季戊三醇；10—二季戊四醇；11—$(HOCH_2)_3CCH_2$ 基代内环化季戊醇

色谱柱：Shim-Pack CLC-ODS，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：50℃

流动相：水

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=250 nm，λ_{em}=389 nm）

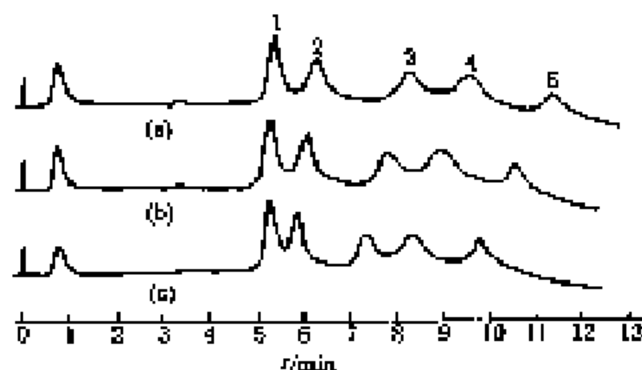


图 10-288 苯乙烯-甲基异丁烯酸共聚物分析谱图[231]

色谱峰①：1—S-MMA（64.5%）；2—S-MMA（47.3%）；3—S-MMA（28.7%）；4—S-MMA（14.7%）；5—聚（甲基异丁烯酸）

① 括号内为苯乙烯含量的摩尔百分数。

色谱柱：硅胶，3 nm 孔大小（Nomura Chemical），5.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 二氯乙烷；B 乙醇

梯度条件：20 min 内 1%B 变至 10%B，线性

温　度：(a) 50℃，(b) 60℃，(c) 70℃

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV(233 nm)

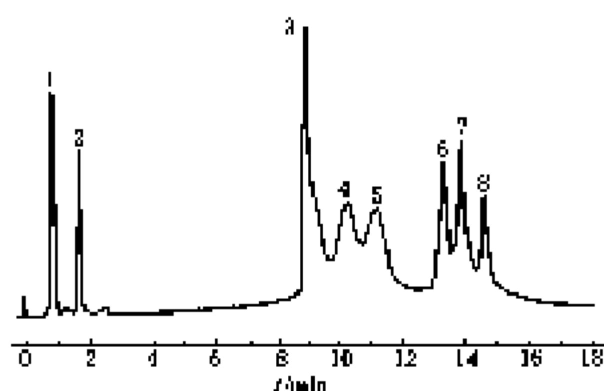


图 10-289 苯乙烯-甲基异丁烯酸聚合物的分离谱图[illegible]

色谱峰①：1—S-MMA(85.3%)；2—溶剂杂质；3—S-MMA(73.4%)、S-MMA(65.7%)和S-MMA(57.4%)的混合物；4—S-MMA(48.7%)；5—S-MMA(42.1%)；6—S-MMA(26.5%)；7—S-MMA(15.8%)；8—聚(甲基异丁烯酸)

① 括号内为苯乙烯含量的摩尔百分数。

色谱柱：硅胶，3 nm孔大小（Nomura Chemical），5.0 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 二氯乙烷，B 乙醇

梯度条件：20 min 0%B变至5%B，5 min 5%B变至10%B

流　速：0.5 ml·min^{-1}

温　度：50℃

检测器：UV（233 nm）

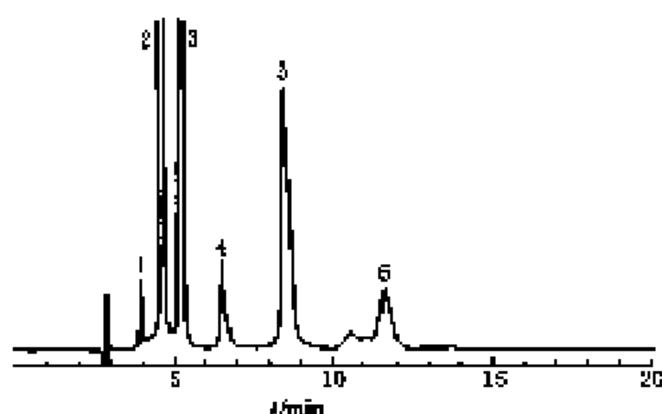


图 10-290 苯磺酸钠反应混合物样品谱图[illegible]

色谱峰：1—苯酚；2—对羟基苯磺酸钠；3—邻羟基苯磺酸钠；4—对羟基苯邻羟基苯亚砜；5—对羟基苯二磺酸钠；6—二对羟基苯基亚砜

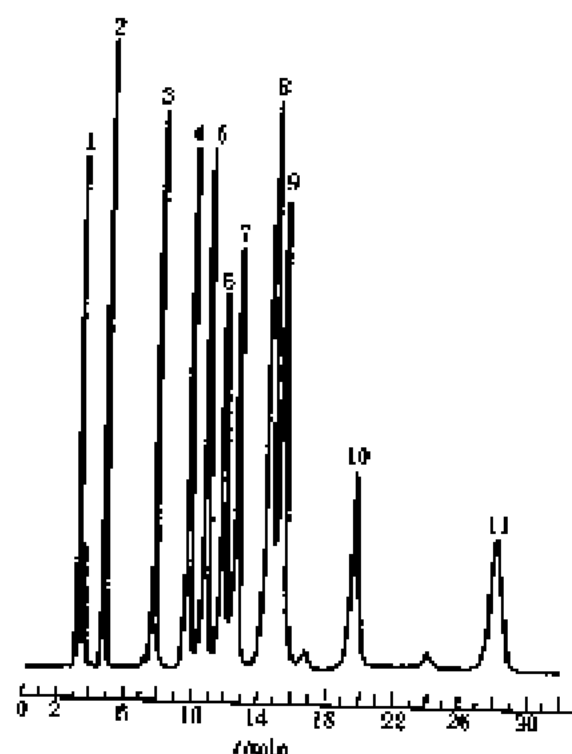
色谱柱：Cyclobond I，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：35℃

流动相：甲醇-0.1 mol·L^{-1}水醋酸铵（体积比=43∶57）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）



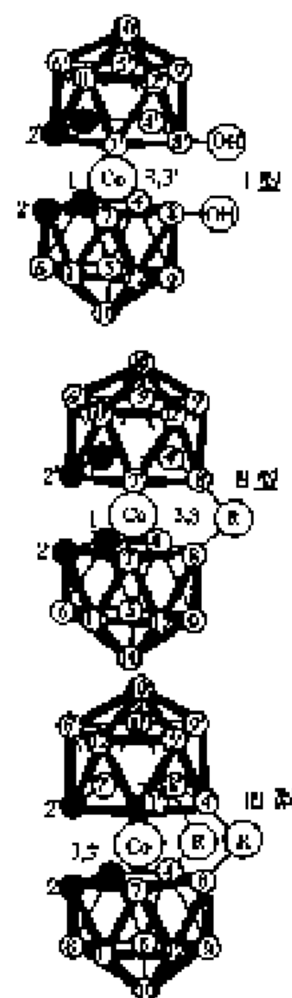


图 10-291　带芳基的钴硼络合物分离谱图[105]

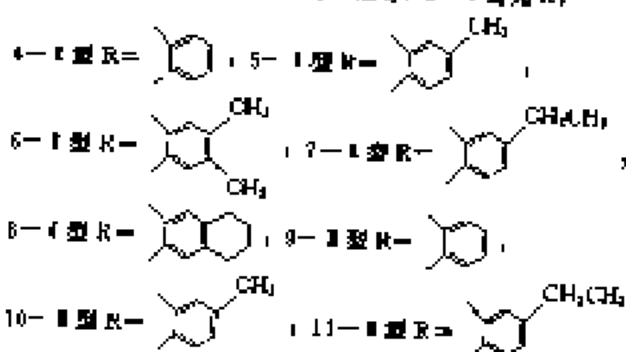
色谱峰：1—Ⅰ型 8，8' 羟基；2—Ⅰ型 8 羟基；3—Ⅱ型无 R；

4—Ⅱ型 R=　；5—Ⅱ型 R=　；

6—Ⅱ型 R=　；7—Ⅱ型 R=　；

8—Ⅱ型 R=　；9—Ⅲ型 R=　；

10—Ⅲ型 R=　；11—Ⅲ型 R=



色谱柱：Separon SGX，250 mm×4 mm，7 μm

柱　温：40℃

流动相：乙腈+水（57+43）+3×10^{-3} mol·L^{-1} n-$C_6H_{13}NH_2$·HCl

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：二极管阵列检测器（290 nm）

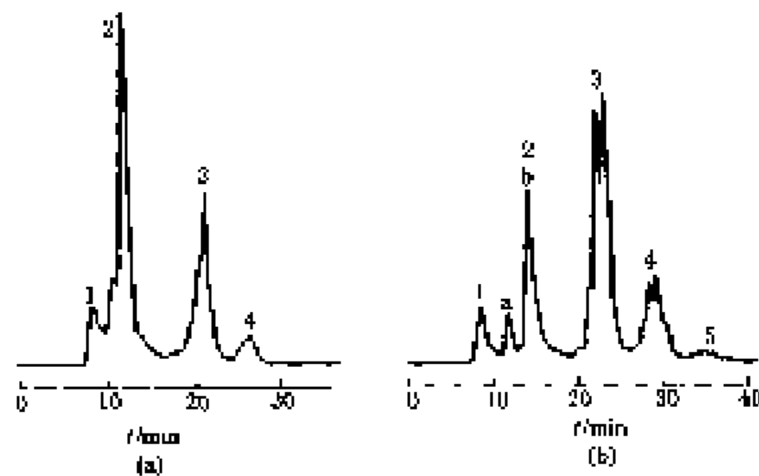


图 10-292 带有脂肪醇的非离子表面活性剂的反相 HPLC 分析[297]

(a) Kyoto 精制 O-1570 成分的分离谱图；(b) DK 酯 F-50 成分分离谱图

色谱峰：1—游离酸；2—单酯 (a—$C_{16:0}$，b—$C_{18:0}$)；3—二酯；4—三酯；5—四酯

色谱柱：Hitachi 凝胶 3057 (C_{18})，15.0 cm×4.6 mm (内径)，3 μm

流动相：A 含有 5.7 mmol·L^{-1} 三乙基胺的甲醇+水 (体积比=85:15)

B 乙醇+甲醇 (75+25)，含有 5.7 mmol·L^{-1} 三乙基胺

线性梯度：

时间/min	φ(B)/%	时间/min	φ(B)/%
5	40	20	86
10	72	25	100
15	86		

流 速：0.8 mL·min^{-1}

温 度：50℃

检测器：柱后反应 UV(550 nm)

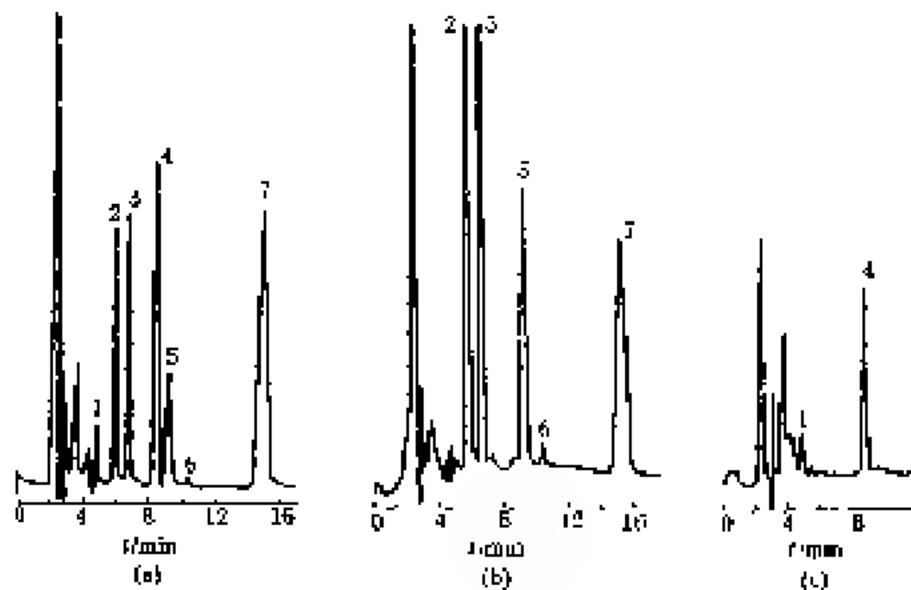


图 10-293 染发剂分离谱图 (一)[298]

(a) 经过 SPE 处理前；(b) 经过 SPE 处理后；(c) 通过 SCX 前馏液

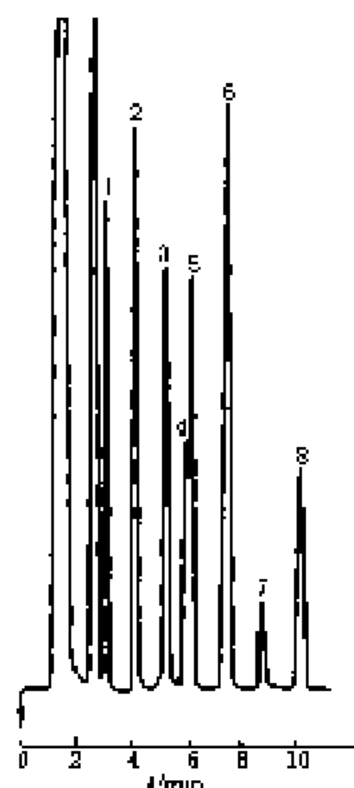
色谱峰：1—4-羟基-1-萘磺酸及钠盐；2—1，4-苯二胺；3—4-氨基苯酚；4—间苯二酚；5—4-甲氧基苯酚；6—3-氨基苯酚；7—2-硝基-1，4-苯二胺

色谱柱：填充 Phenomenex Bondclone C_{18}，300 mm×3.9 mm (内径)，10 μm

流动相：乙腈+水[含有 5 mmol·L^{-1} 1，8-二氨基辛烷和 20 mmol·L^{-1} 庚磺酸钠溶液 (pH4.5)] (5+95)

流 速：1.3 mL·min^{-1}

检测器：UV(275 nm)



色谱峰：1—1-氨基苯酚；2—3-氨基苯酚和4-氨基苯酚；3—4-氨基邻甲苯酚；4—2-氨基-4,6-二硝基苯酚；5—N,N-二甲基-1,4-苯二胺；6—2-羟氨基-1,4-苯二胺；7—4-甲氨基苯酚；8—2-硝基-1,4-苯二胺

色谱柱：Phenomenex Bondclone C_{18}，300 mm×3.9 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈＋水相［含有1,6-二氨基辛烷和20 mmol·L⁻¹磷酸钠（pH4.5）］（15＋85）

流　速：1.3 ml·min⁻¹

检测器：UV（275～290 nm）

图 10-294　染发剂分离谱图（二）[216]

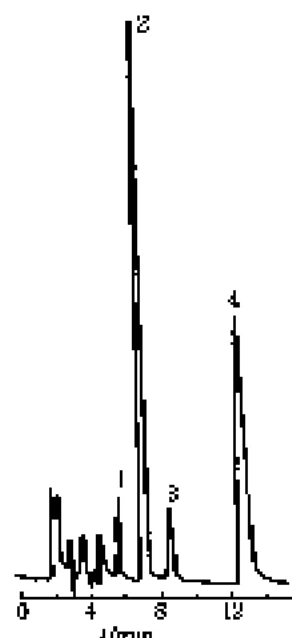


图 10-295　染发剂分离谱图（三）[216]

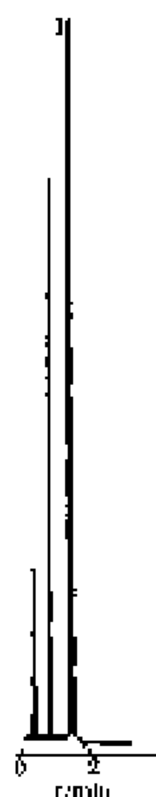
色谱峰：1—2,4-苯二胺；2—4-氨基苯酚；3—3-氨基苯酚；4—2-硝基-1,4-苯二胺

色谱柱：填充 Phenomenex Bondclone C_{18}，300 mm×3.9 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈＋水相［含有5 mmol·L⁻¹ 1,6-二氨基辛烷和20 mmol·L⁻¹磷酸钠缓冲液（pH4.5）］（5＋95）

流　速：1.3 ml·min⁻¹

检测器：UV（275 nm）



色谱峰：1—柠檬酸

色谱柱：ChromSep 色谱柱（Chrompack），Chrom Spher C_{18}（Chrompack），键合十八烷基硅，20.0 cm×3.0 mm（内径），5 μm

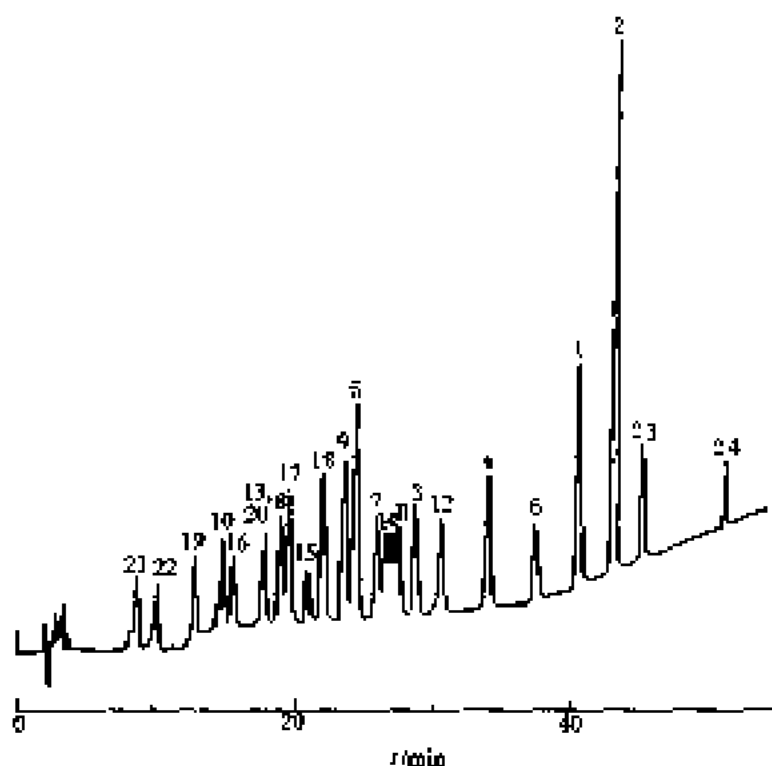
流动相：15 g·L⁻¹ $NH_4H_2PO_4$（用 H_3PO_4 调至 pH1.85）

流　速：1.1 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV（206 nm）

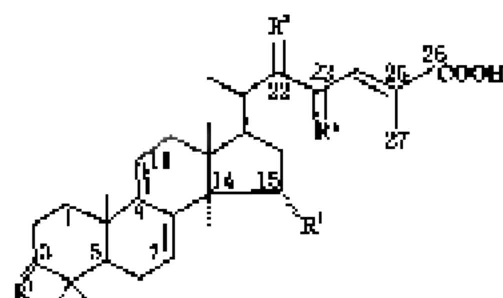
图 10-296　柠檬酸分离谱图[216]



色谱柱：Cosmosil 5C18，25 cm×0.46 cm（内径）
流动相：A 甲醇＋乙酸（体积比＝100∶0.5）
B 甲醇＋水＋乙酸（体积比＝80∶20∶0.5）
流　速：1.0 ml·min⁻¹
梯度洗脱程序：开始时80%甲醇，15 min线性增加至84%，在下一个15 min内增加至88%，接着10 min内增至88%，下10 min内增至94%，最后用20 min增至100%
检测器：UV(243 nm)

图 10-297　标准三萜类化合物的分离谱图[20]

色谱峰：



峰	R¹	R²	R³	R⁴
1	OAC/H	OAC	H_2	H_2
2	H/OAC	OAC	H_2	H_2
3	OH/H	OAC	H_2	H_2
4	OAC/H	OH	H_2	H_2
5	H/OH	OAC	H_2	H_2
6	H/OAC	OH	H_2	H_2
7	OH/H	OH	H_2	H_2
8	H/OH	OH	H_2	H_2
9	OAC/H	OH	H/OAC	H_2
10	H/OH	OAC	H/OAC	H_2
11	OAC/H	OAC	H/OAC	H_2
12	H/OAC	OAC	H/OAC	H_2
13	OH/H	OAC	H_2	O
14	OAC/H	OAC	H_2	O
15	OAC/H	OH	H_2	O
16	OAC/H	OH	OH/H	H_2
17	OAC/H	OAC	OH/H	H_2
18	H/OAC	OAC	OH/H	H_2
19	H/OH	OH	H/OAC	H_2
20	OH/H	OH	H/OAC	H_2
21	H/OH	OH	H/OH	H_2
22	OH/H	OH	OH/H	H_2
23	OH/H	H	H_2	H_2
24	OAC/H	H	H_2	H_2

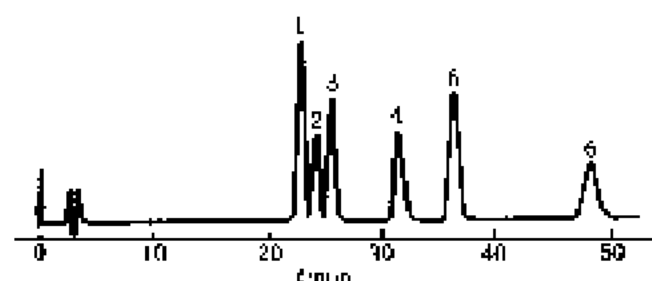


图 10-298 残杀威及其代谢物（酚类）谱图[illegible]

色谱峰：1—残杀威；2—羟基呋喃丹；3—呋喃丹；4—[illegible]基残杀威；5—西维因；6—羟基西维因

色谱柱：Ultrabase C_{18}

流动相：水+乙腈（75+25）

检测器：UV-Vis（400 nm）



图 10-299 莨菪胺等胺类物质分离谱图[illegible]

色谱峰：1—莨菪胺（3.990 min）；2—东莨菪碱（6.037 min）；3—（巴米茶碱 8.750 min）（内标物）等

色谱柱：填充 Spherisorb ODS-2 载体，250 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈+甲醇+0.05 mol·L⁻¹乙酸铵（体积比=20.8∶27.9∶51.3）

检测器：UV（210 nm）

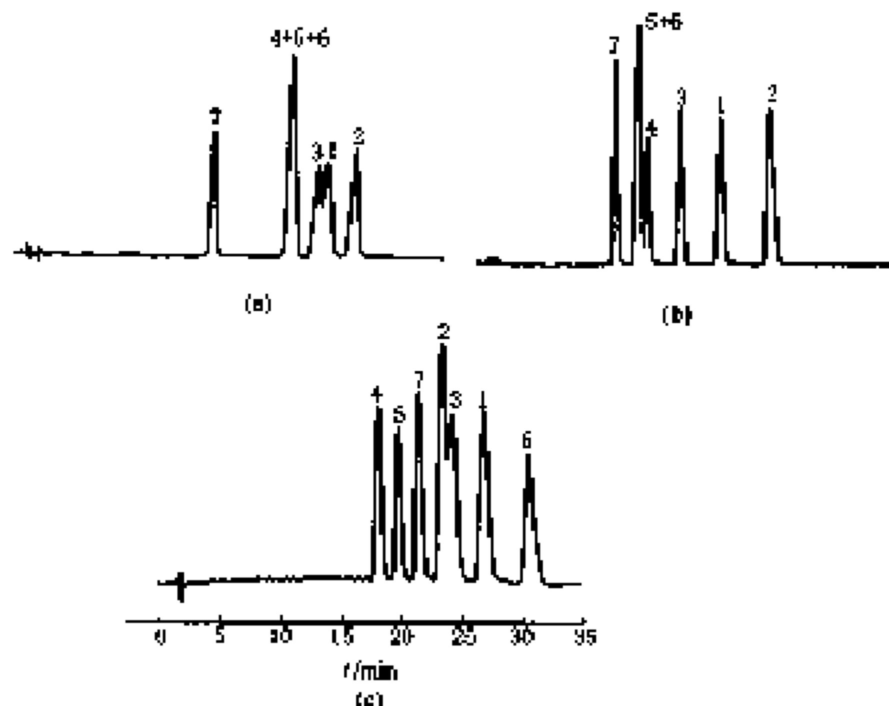


图 10-300 䓛和甲基䓛在不同色谱柱上分离谱图[illegible]

色谱峰：1—1-甲基䓛；2—2-甲基䓛；3—3-甲基䓛；4—4-甲基䓛；5—5-甲基䓛；6—6-甲基䓛；7—䓛

色谱柱：(a) 单体 C_{18}；(b) 聚合 C_{18}；(c) TCPP 电荷转移柱

流动相：(a) 乙腈+水（体积比=70∶30）；

(b) 乙腈+水（体积比=70∶30）；

(c) 二氯甲烷+己烷（体积比=25∶75）

检测器：UV（254 nm）

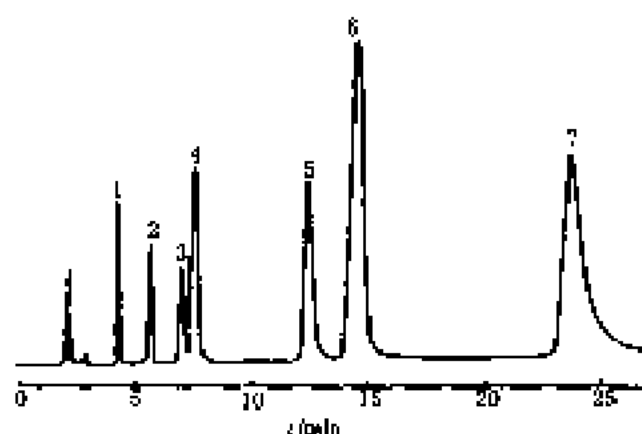


图 10-301　氧化染发染料分离谱图（一）[315]

色谱峰：1—1，4-苯二胺；2—4-甲氨基苯酚；3—N，N-二甲基-1，4-苯二胺；4—2-硝基-1，4-苯二胺；5—4-氨基邻二甲苯酚；6—2-双氨基-1，4-苯二酚；7—2-氨基-4，6-二硝基苯酚

色谱柱：Phenomenex Bondclone C_{18}，10 μm，300×3.9 mm（内径）

流动相：乙腈+水［含有1，8-二氨基辛烷和20 mmol·L^{-1}庚磺酸钠（pH4.5）］（体积比=15∶85）

流　速：1.3 ml·min^{-1}

检测器：UV（275 nm）

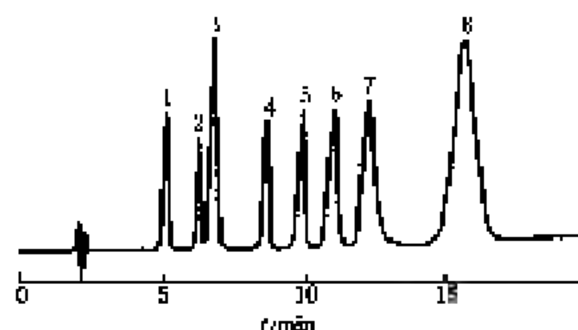


图 10-302　氧化染发染料分离谱图（二）[316]

色谱峰：1—1，4-苯二胺；2—4-氨基苯酚；3—1，3-苯二胺；4—4-甲氨苯酚；5—3-氨基苯酚；6—N，N-二甲基-1，4-苯二胺；7—1-氨基苯酚；8—1，3-苯二酚

色谱柱：填充 Phenomenex Bondclone C_{18}，10 μm，300×3.9 mm（内径）

流动相：乙腈+水［含有5 mmol·L^{-1}1，8-二氨基辛烷和20 mmol·L^{-1}庚磺酸钠缓冲液（pH4.5）］（5+95）

流　速：1.3 ml·min^{-1}

检测器：UV（275 nm）

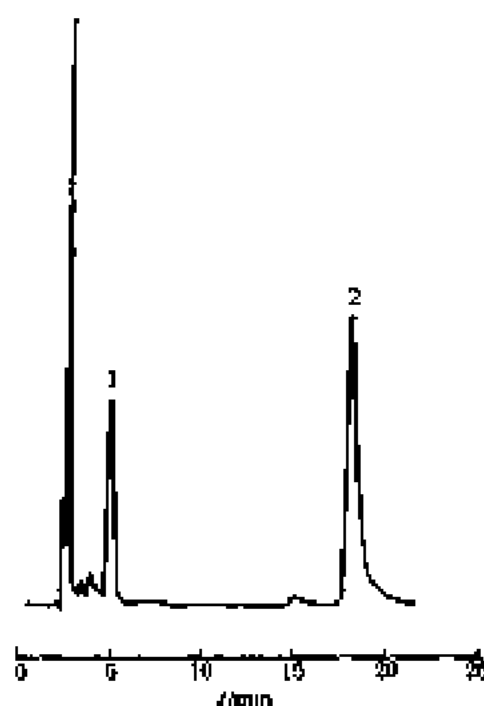


图 10-303　烟雾剂分离谱图（一）[316]

色谱峰：1—$[Fe(PZ)_3]^{2-}$，2—PZ（PZ=3-（2-吡啶基）-5，6-二苯基-1，2，4-三嗪-p，p′-二磺酸基苯磺酸盐）

色谱柱：Supelco LC-18，5 μm，250 mm×4.6 mm

流动相：400 ml（0.0500 g SDS，0.5000 g NaCl，0.0100 g TBA，100 ml methanol），1 ml·min^{-1}

检测器：UV-Vis（254 nm）

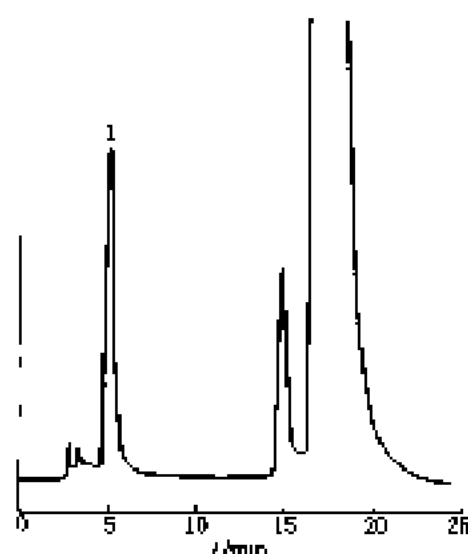


图 10-301　烟雾剂分离谱图（二）[20]

色谱峰：1. $[Fe(PZ)_3]^{2+}$

色谱柱：Supelco LC-18，5 μm，250 mm×4.6 mm

预处理柱：C18 Sep-Pak

流动相：400 ml（0.0500 g SDS，0.5000 g NaCl，0.0100 g TBA，100 ml methanol），1 ml·min^{-1}

检测器：UV-Vis（254 nm）

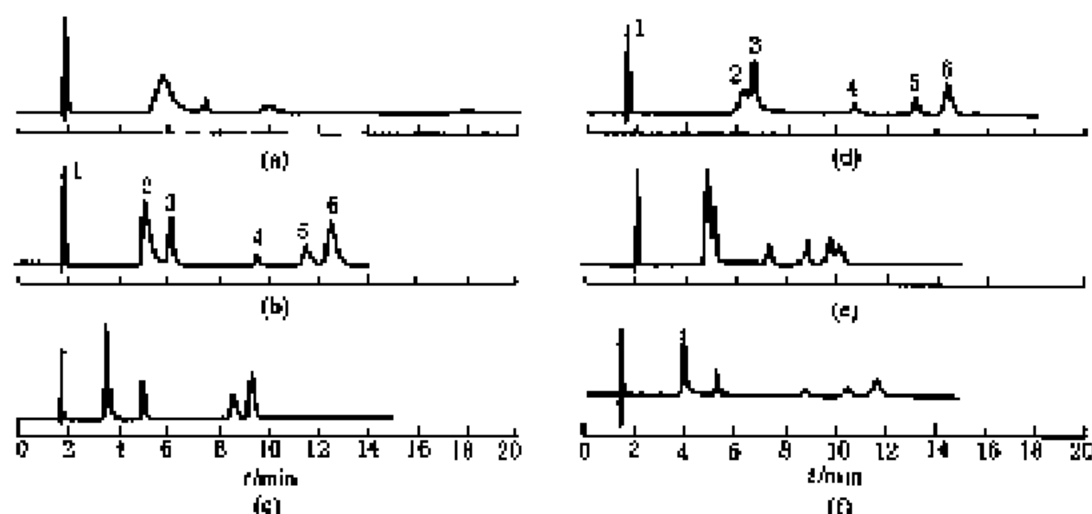


图 10-305　胺基化合物在不同色谱柱上分离比较谱图[1**]

色谱峰：1—尿嘧啶；2—吡啶；3—苯胺；4—苯酚；5—邻甲苯胺；6—间和对甲苯胺

色谱柱：15 cm×0.46 cm（内径）。(a) HYPERSIL BDS-C (5 μm)；(b) INERTSIL-C (5 μm)；(c) SUPELCOSIL ABZ，5 μm；(d) SYMMETRY-C，5 μm；(e) YMC-BASIC ZORBAX，5 μm；(f) XDB-C，5 μm

流动相：甲醇-水（体积比=30:70）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV

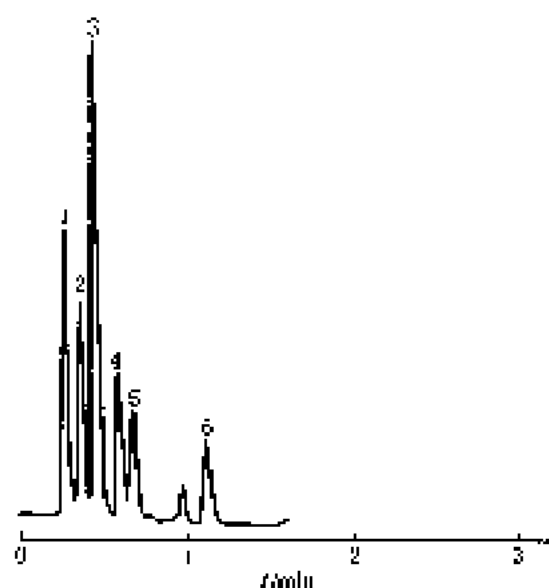


图 10-306 脂肪酸分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—草酸；2—乙酸；3—戊二酸；4—丙酸；5—己二酸；6—丁酸

色谱柱：黄金系列 Zorbax(Du Pont) 键合辛烷硅，8.0 cm×6.2 mm（内径），3 μm

流动相：甲醇—0.025 mol·L⁻¹ NaH_2PO_4（用 H_3PO_4 调至 pH2.0）（体积比=20:80）

流 速：6 ml·min⁻¹

色谱柱温：50℃

检测器：UV(210 nm)

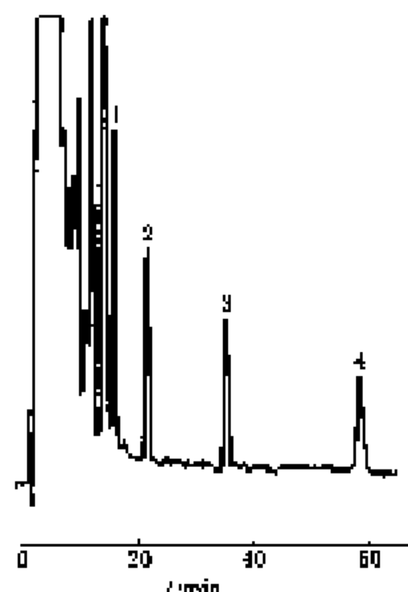


图 10-307 脂肪酸分离谱图（二）[32]

色谱峰：1—C_{12}；2—C_{14}；3—C_{16}；4—C_{18}

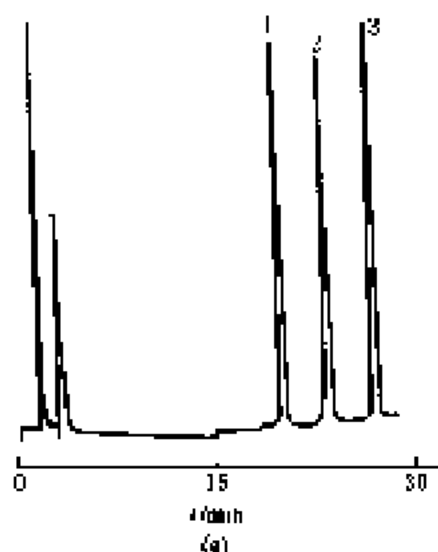
色谱柱：[illegible] 柱；25 cm×4.6 mm（内径），填充 Zorbax ODS 载体

流动相：960 ml 乙腈/40 ml 水

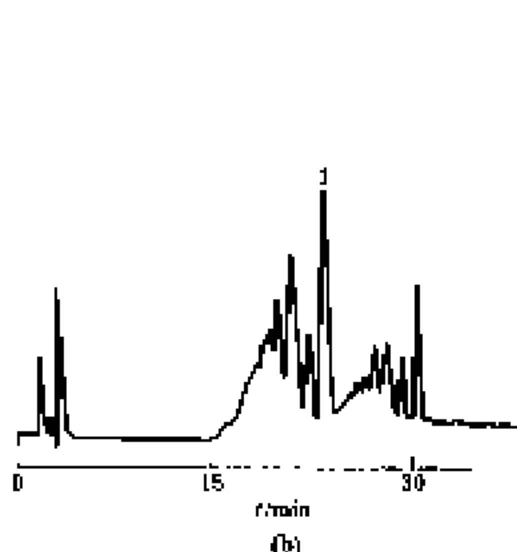
流 速：1.2 ml·min⁻¹

温 度：40℃

检测器：电化学检测器



(a)



(b)

图 10-308 脂肪醇及其聚氧乙烯醚分离谱图[33]

色谱峰：1—十二烷醇；2—十三烷醇；3—十四烷醇；4—C_{12}-7EO

色谱柱：Lichrosorb RP18 250 mm×4.6 mm（内径）7 μm

柱 温：室温

流动相：A 甲醇+水（体积比=80:20）；B 甲醇

梯度冲洗：20%B $\xrightarrow{15\ min}$ 80%B

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（276 nm）

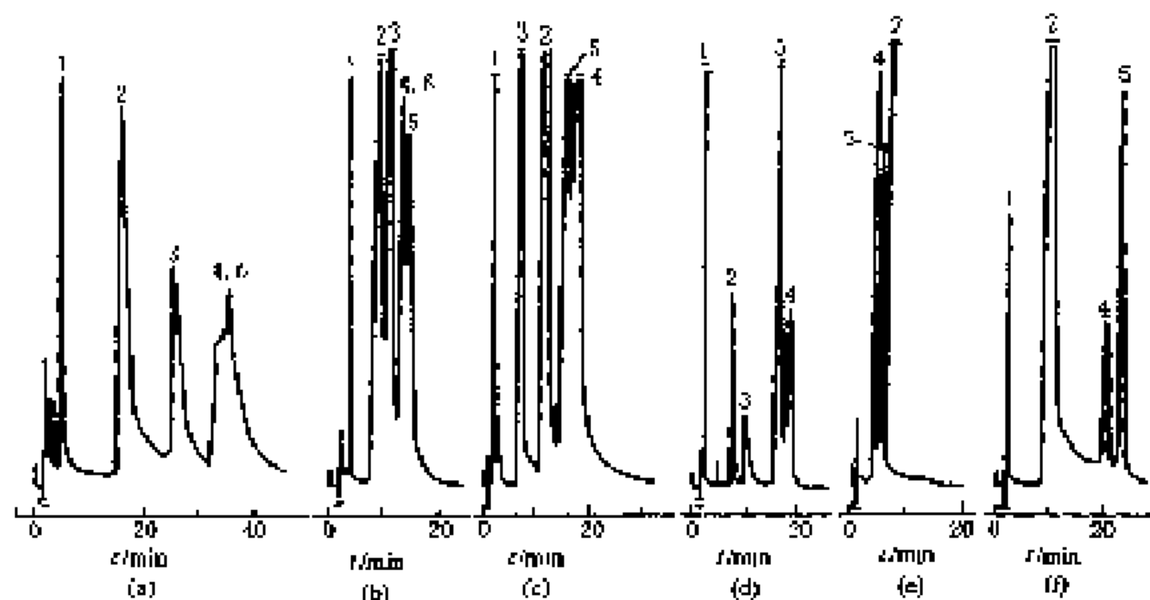


图 10-309 偶氮染料分离谱图

色谱峰：1—V；2—R；3—Co；4—Fe；5—Ni；6—Al

色谱柱：Lichrocart 125 mm×4 mm，7 μm

预 柱：Lichrosorb RP18，10 mm×4 mm

流动相：乙腈+水（含 TBA 10^{-3} mol·kg^{-1}，w（乙腈）=50%

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV—Vis（550 nm）

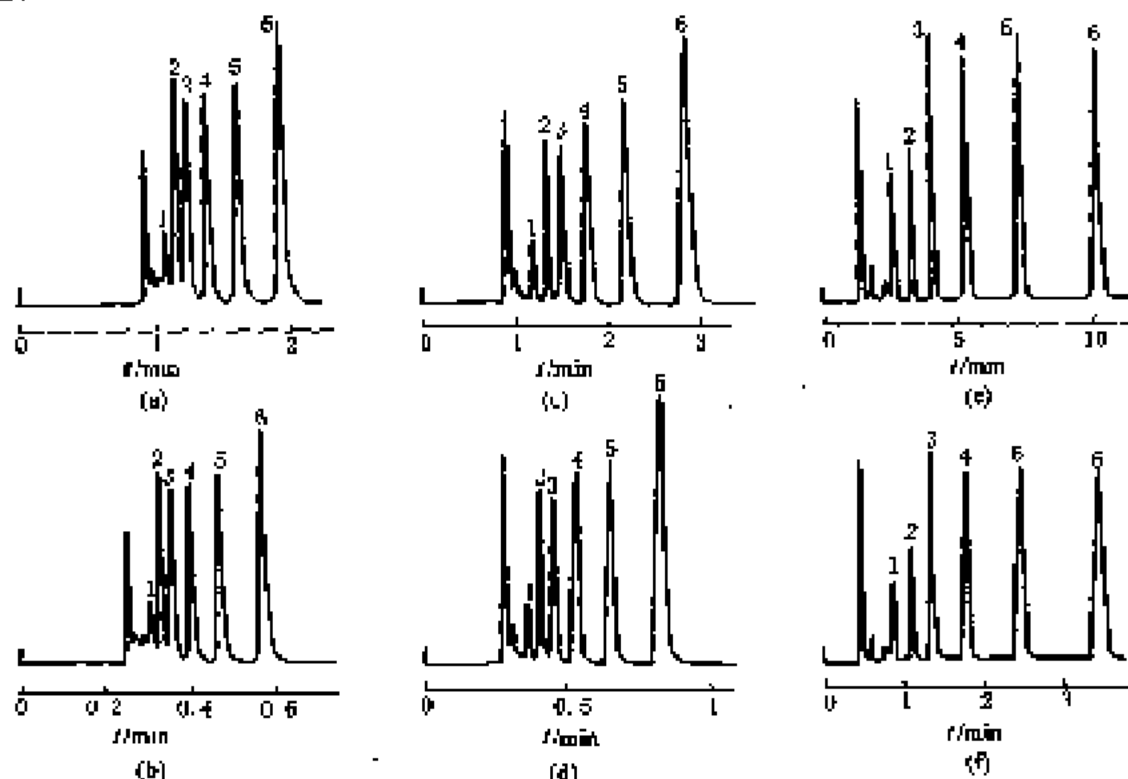


图 10-310 烷基苯（$C_6H_5C_nH_{2n+1}$，n=0～5）分离谱图

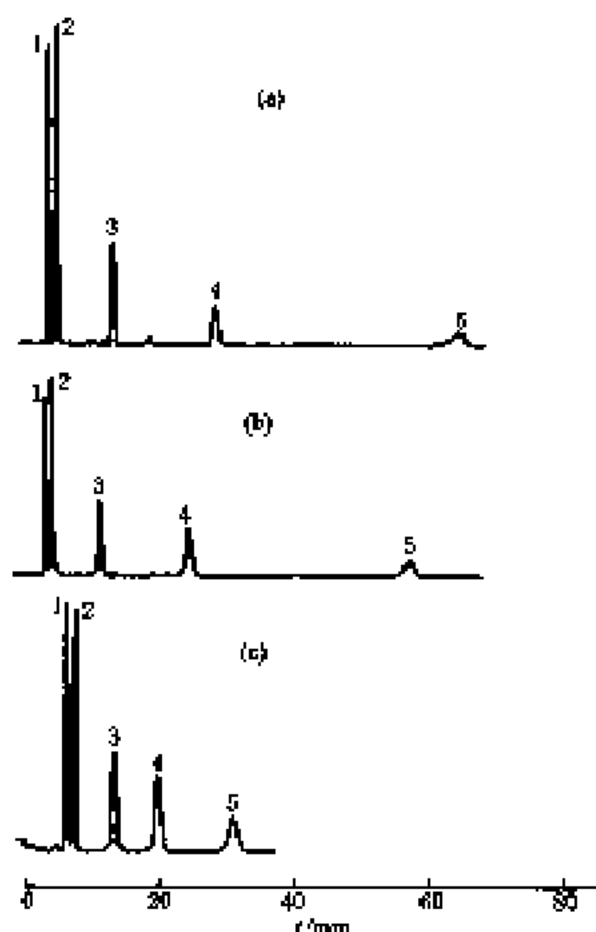
色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—乙苯；4—丙苯；5—丁苯；6—戊苯

色谱柱：(a)，(b) SR-(I)-F C_{18}；(c)，(d)8.3 cm，SR-(I)-S-C_{18}；(e)，(f)15 cm，Capcellpak C_{18}UG

流动相：甲醇+水（80+20）

流 速：(a)1.5 mm·s^{-1}；(b)6.0 mm·s^{-1}；(c)1.5 mm·s^{-1}；(d)5.2 mm·s^{-1}；(e)1.6 mm·s^{-1}；(f)4.7 mm·s^{-1}

检测器：UV（215 nm）



色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—丁基苯；4—己基苯；5—辛苯

色谱柱：(a) ODS，150 mm×4.6 mm (内径)；(b) ODP Asahipak，150 mm×4.6 mm (内径)；(c) PA-EGDM，150 mm×4.6 mm (内径)

流动相：乙腈+水 (体积比=60：40)

流　速：(a) 1.0 ml·min^{-1}；(b) 1.0 ml·min^{-1}；(c) 0.5 ml·min^{-1}

检测器：紫外，二极管矩阵

图 10-311　烷基苯分离谱图[282]



色谱峰：1—微囊藻毒素-RR；2—节球藻素；3—微囊藻毒素-LR；4—微囊藻毒素-YR；5—微囊藻毒素-LA

色谱柱：ISRP GFF-S5-80，250 mm×4.6 mm (ISRP 预处理柱)

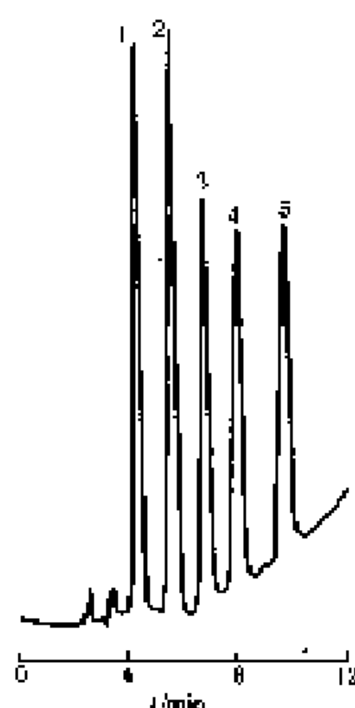
流动相：A 90%0.1 mol·L^{-1} KH_2PO_4 (用 HCl 调至 pH2)+乙腈 (体积比=90：10)
B 0.2 mol·L^{-1} KH_2PO_4 (用 HCl 调至 pH2)+乙腈 (体积比=50：60)
$100\%A \xrightarrow{12\ min} 78\%A$

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：24℃

检测器：UV (238 nm)

图 10-312　氰化苷肽毒素分离谱图 (pH2.0)[283]



色谱峰：1—微囊藻毒素-LA；2—结节素；3—微囊藻毒素-LR；4—微囊藻毒素-YR；5—微囊藻毒素-RR

色谱柱：ISRP GFF-S5-80，250 mm×4.6 mm（ISRP 预处理柱）

流动相：A 0.1 mol·L⁻¹ KH_2PO_4（以 10 mol·L⁻¹ KOH 调 pH=7.00）乙腈

B 50% 0.8 mol·L⁻¹ KH_2PO_4（以 KOH 调 pH=7.0）+50%乙腈

100%A $\xrightarrow{18\ \text{min}}$ 75%A

流　速：1 ml·min⁻¹

柱　温：24℃

检测器：UV（238 nm）

图 10-313　环化苷肽毒素分离谱图（pH7.0）[illegible]

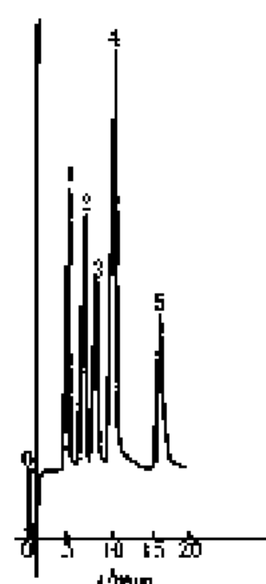


图 10-314　氯氮䓬及其代谢物分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—地莫西泮；2—去甲氯氮䓬；3—去甲羟基安定；4—氯氮䓬；5—去甲地莫西泮

色谱柱：Nucleosil C_{18}，100 mm×4.6 mm，5 μm

流动相：乙腈

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：二极管矩阵紫外（265 nm）

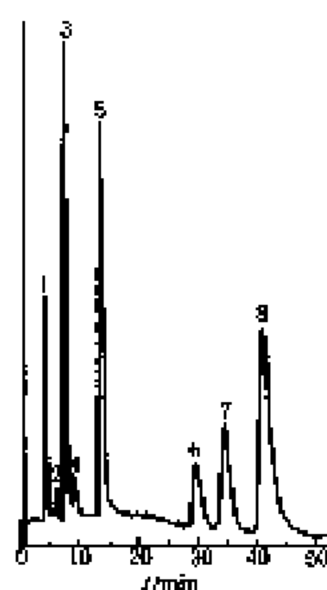


图 10-315　氯氮䓬及其代谢物分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—地莫西泮；2—去甲氯氮䓬；3—奥沙西泮；4—氯氮䓬；5—去甲地莫西泮；6—coumarudine of desmethylCDZ；7—coumarudine of demoxepam；8—coumarudine of CDZ

色谱柱：Nucleosil C_{18}，100 mm×4.6 mm，5 μm

柱　温：20℃

流动相：乙腈

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：二极管矩阵紫外（265 nm）

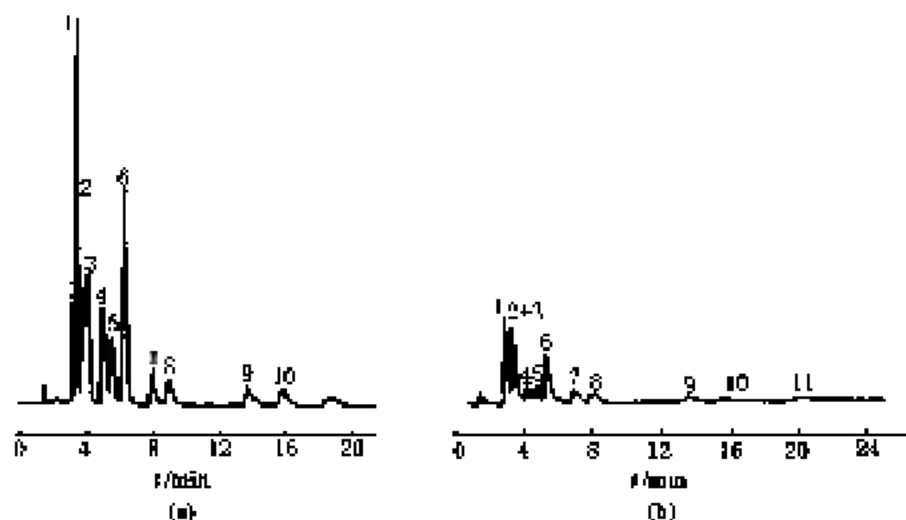


图 10-316 8-喹啉磺酰胺类分离谱图

色谱峰：1—甲胺；2—二甲胺；3—乙胺；4—丙胺；5—二乙胺；6—丁胺；7—戊胺；8—二丙胺；9—庚胺；10—二丁胺；11—苄胺

色谱柱：RP-C_8，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) MeCN+乙酸盐缓冲液+TEA（体积比=50：50：0.01）；

(b) MeOH+乙酸盐缓冲液+TEA（体积比=60：40：0.01）

检测器：UV（254 nm）

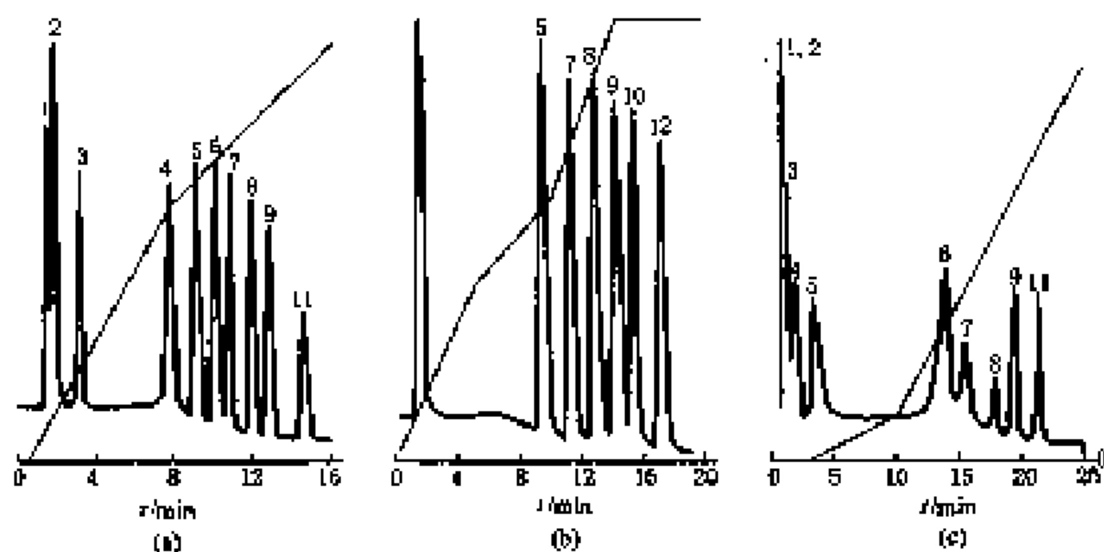


图 10-317 链烷基和烷基磺酸盐的分离谱图（一）

色谱峰：1—C_2；2—C[illegible]；3—C[illegible]；4—C[illegible]；5—C[illegible]；6—C[illegible]；7—C[illegible]；8—C[illegible]；9—C[illegible]；10—C[illegible]；11—C[illegible]；12—C[illegible]

色谱柱：PRP-1 柱，150 mm×4.1 mm（内径），10 μm

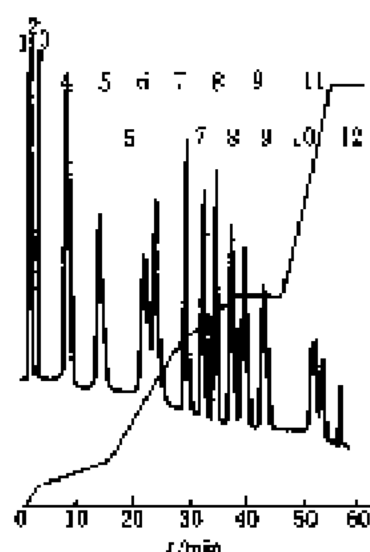
分析物：烷基磺酸盐

流动相：(a)、(b) A 水含 10 mmol·L^{-1} LiOH 溶剂 B 乙腈+水（体积比=4：1）含 1 mmol·L^{-1} LiOH；

(c) A 水，溶剂 B 乙腈

泵：M-110 A

检测器：电导



色谱峰：1—C_2；2—C_3；3—C_4；4—C_5；5—C_6；6—C_7；7—C_8；8—C_{10}；9—C_{12}；10—C_{14}；11—C_{16}；12—C_{18}

色谱柱：PRP-1柱，150 mm×4.1 mm（内径），10 μm

流动相：A H_2O含10 mmol·L^{-1} LiOH；B 乙腈+水（4+1）含1 mmol·L^{-1} LiOH

泵：M-120 A

检测器：电导

图 10-318　羟烷基和烷基磺酸盐的分离谱图（二）[58]



图 10-319　硫代氨基甲酸盐的分离谱图[55]

色谱峰：1—万灵；2—涕灭威；3—草氨酰；4—抗蚜威；5—灭草猛；6—燕麦灵；7—野麦畏

色谱柱：匀浆填充Rosil-C_{18}载体 10 cm×250 mm（内径）

流动相：水+甲醇（10+90）

检测器：火焰电离检测



图 10-320　酮酸的分离谱图[156]

色谱峰：1—α-酮戊二酸；2—α-酮丁酸；3—α-酮异戊酸；4—α-酮-β-甲基-正戊酸；5—α-酮异己酸；6—α-酮正己酸

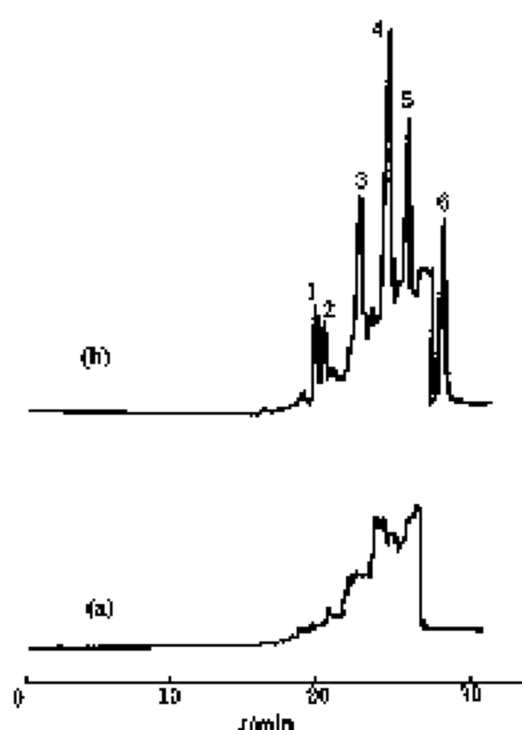
色谱柱：PRP-X300（Hamilton）磺酸代聚苯乙烯-二乙烯苯 15.0 cm×4.1 mm（内径），7 μm

流动相：乙腈+0.005 mol·L^{-1} H_2SO_4（1+9）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

温：室温

检测器：UV（200 nm）



色谱峰：1—苯并［a］蒽；2—䓛；3—苯并［b］荧蒽；4—苯并［a］芘；5—二苯并［a，h］蒽；6—茚并［1，2，3-cd］芘

色谱柱：用完 VYDAC 201TP，250 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：乙腈＋水

梯度冲洗：

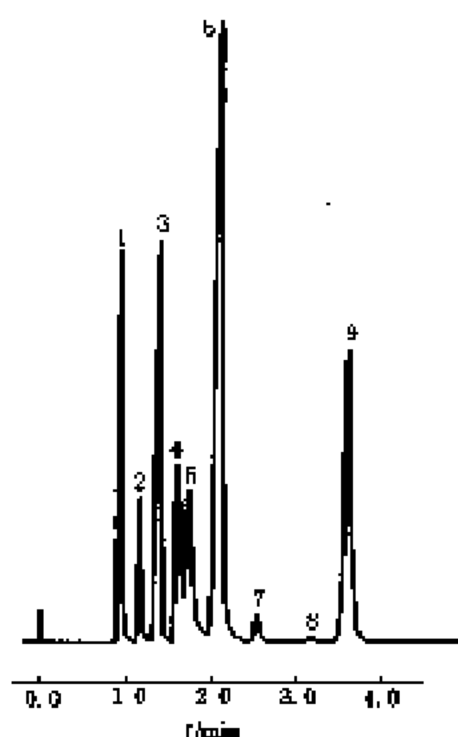
时间/min	φ(乙腈)/%	时间/min	φ(乙腈)/%
0	50	20	100
5	50	35	100

荧光检测：

时间/min	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm
0	290	340
14	290	420
30	290	500

图 10-321　煤烟提取物分离谱图[illegible]

(a) 未掺入样品；(b) 掺入样品



色谱峰：1—$W(CO)_6$；2—$(n\text{-}C_4H_9)_3SnW(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5)$；3—$(CH_3)_3SnW(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5)$；4—$(n\text{-}C_4H_9)_2SnClW(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5)$；5—$W_2(CO)_6(\pi\text{-}C_5H_5)_2$；6—$(CH_3)_2SnClW(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5)$＋$(n\text{-}C_4H_9)_2Sn(W(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5))_2$；7—$(CH_3)_2Sn(W(CO)_3\pi\text{-}C_5H_5)_2$；8—未知物；9—$ClW(CO)_3(\pi\text{-}C_5H_5)$

色谱柱：Rsil CN（Bio-Rad RSL N. V.），0.46 cm×15 cm，3 μm

流动相：四氢呋喃＋己烷（10＋90）

流　量：2 mL·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）

图 10-322　锡钨络合物分离谱图[illegible]

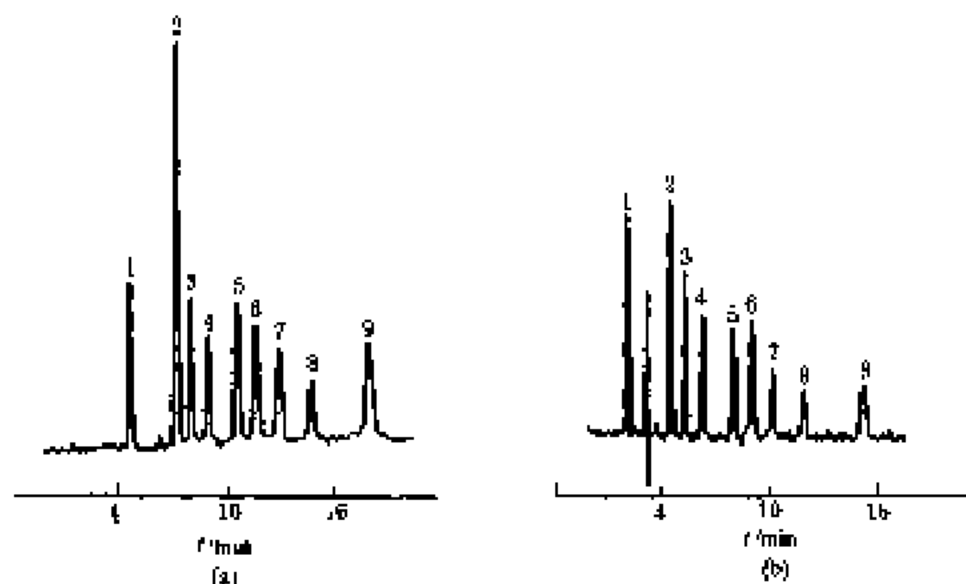


图 10-323 醌类化合物分离谱图[illegible]

色谱峰：1—9,10-蒽醌-2-磺酸；2—1,4-萘醌；3—2-甲基-1,4-萘醌；4—2,7-二甲基-1,4-萘醌；5—9,10-蒽醌；6—1,5-二氯-9,10-蒽醌；7—2-甲基-9,10-蒽醌；8—2-乙基-9,10-蒽醌；9—2-叔丁基-9,10-蒽醌

色谱柱：填充ODS柱体，250 mm×4.6 mm

流动相：甲醇+水（89∶11）

流　速：0.8 mL·min⁻¹

检测器：(a) PO-CL；(b) UV（251 nm）

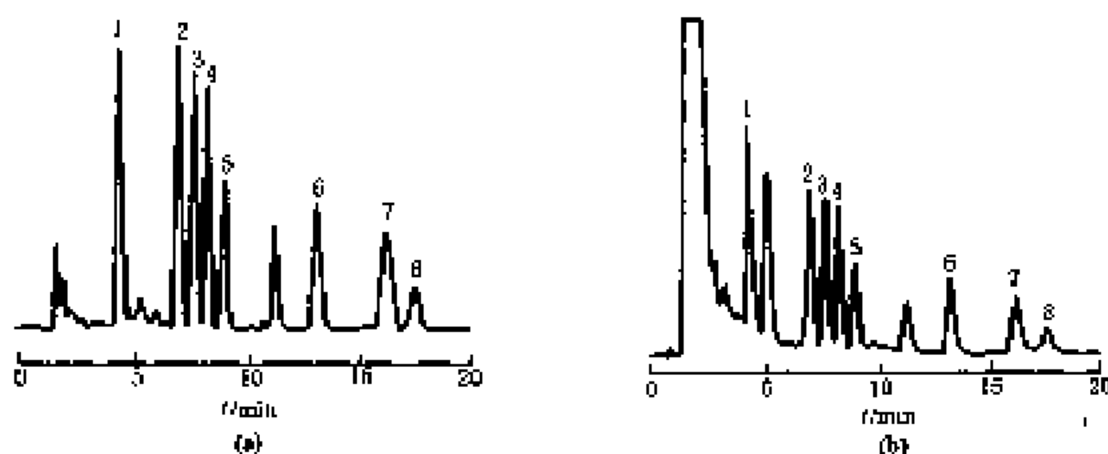


图 10-324 磺胺类化合物分离谱图[illegible]

(a) 磺胺类分离谱图；(b) 强化牛奶提取物中磺胺分离谱图

色谱峰：1—磺胺二甲异嘧啶；2—磺胺噻唑；3—磺胺甲基嘧啶；4—磺胺二甲嘧啶；5—磺胺甲氧嗪；6—磺胺甲异噁唑；7—磺胺二甲氧嘧啶；8—磺胺喹噁啉

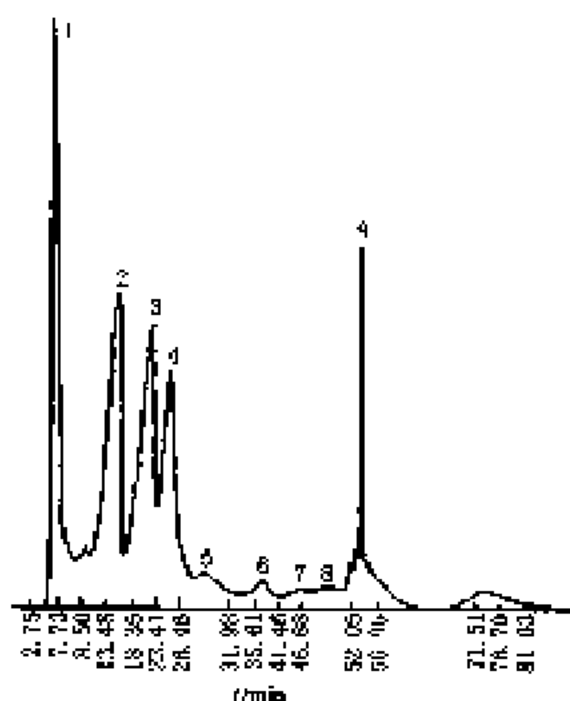
色谱柱：Inertsil ODS-3 (C_{18})（GL Sciences），15.0 cm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈−2%乙酸（体积比=3∶5）

流　速：1.0 mL·min⁻¹

柱　温：55℃

检测器：激光诱导荧光（λ_{ex}=405 nm，λ_{em}=485 nm）



色谱峰：1—未知 (22%)；2—邻羟基苯醛（内标物）；3—香草醛（34%）；4—对羟基苯甲醛（29%）；5—阿魏醛（0.5%）；6—对羟基苯甲醇（0.5%）；7—香草酸（0.5%）；8—阿魏酸（0.5%）；9—未知物（8.5%）

色谱柱：填充 Whatman Partisphere-5 WCX（三根柱依次联接），11 cm×4.6 mm（内径）

流动相：己烷＋乙醇＋水（体积比＝300∶30∶0.75）

流　速：0.4 ml·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）

图 10-325　醛、酸类化合物分离谱图[184]

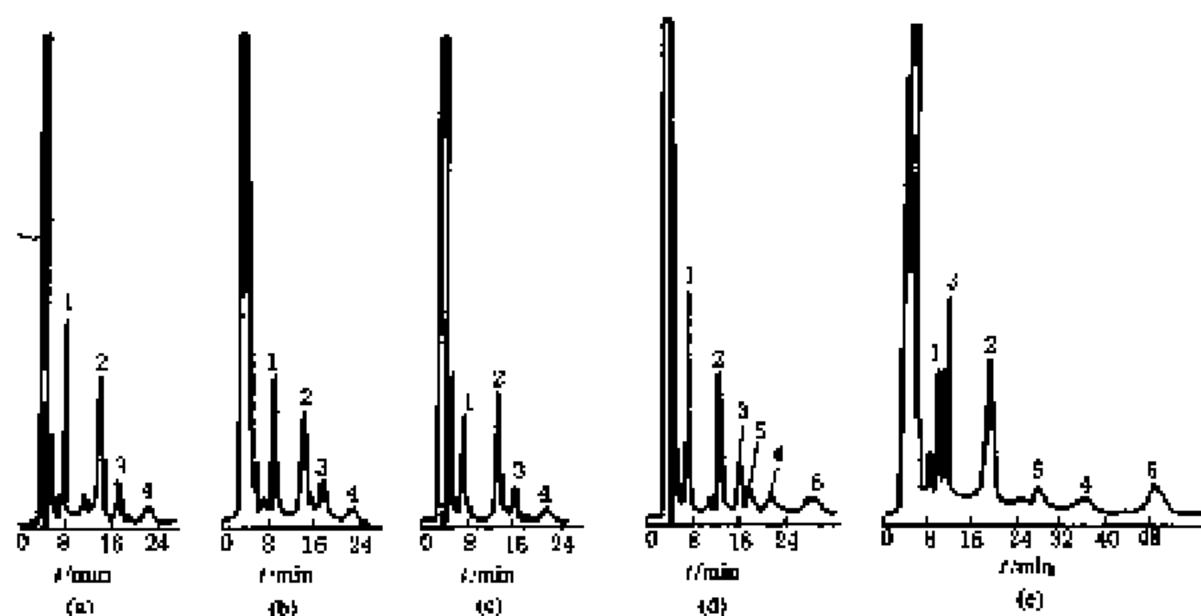


图 10-326　磷脂类化合物分离谱图[325]

(a)～(d)商品大豆卵磷脂谱图，(e) 为 (d) 样品的磷脂成分分离谱图

色谱峰：1—PE-磷脂酰乙醇胺；2—卵磷脂；3—磷脂酰肌醇；4—溶血卵磷脂；5—LPE；6—LPC

色谱柱：β-CDS

流动相：己烷＋ISP＋乙醇＋水－5 mmol·L^{-1} TMAP（pH6.3）（体积比＝36∶32.7∶26.8∶6.5）

(e) 己烷＋ISP＋乙醇＋水－5 mmol·L^{-1} TMAP（pH6.3）（体积比＝25∶38.5∶33.5∶3.0）

检测器：UV（208 nm）

参 考 文 献

1 Herbreteau B, Lafosse M, Morin-Allory L. Chromatogr, 1992; 33: 525
2 Niederkeuser T L, Hobling J, Polson N A, et al. J Chromatogr A, 1998; 804: 69
3 Elfakir C, Lafosse M. J Chromatogr A, 1997; 782: 395
4 J Chromatogr Sci, 1987, 25: 591
5 J Chromatogr Sci, 1987, 25: 590
6 J Chromatogr Sci, 1992, 30: 512
7 Shen X, Perreault H. J Chromatogr A, 1998; 811: 47
8 Casella I G, Gatta M, Desimoni E. J Chromatogr A, 1998; 814: 63
9 Buchberger W. Chromatographia, 1990; 30: 577
10 Peter A, Torok G, Csomos P. J Chromatogr A, 1997, 761: 103-113
11 Suzuki S, Hayase S, Nakano M, et al. J Chromatogr Sci, 1998; 36: 375
12 Kotsuma H, Ohtsu Y, Yamaguchi M. J Chromatogr, 1993; 636: 187
13 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 318
14 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 317
15 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 270
16 J Chromatogr Sci, 1988; 26: 86
17 J Chromatogr Sci, 1988; 26: 43
18 Zhang R, Luo G, Hidekazu Y. J Chromatogr, 1993; 646: 45
19 郑春霞，梁永翔，陈玲. 分析测试学报, 1998, 17: 46
20 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 271
21 J Chromatogr Sci, 1991; 29: 129
22 Welch L E, Lacourse W R, Mead Jr D A. Anal Chem, 1989; 61: 555
23 J Chromatogr Sci, 1991; 29: 90
24 Lawrence E, Welch L E, Johnson D C. J L Chromatogr, 1992; 13: 1387
25 Gomis D B, Lobo A M P, Gutierrez A M D et al. Chromatographia, 1990; 29(3/4)
26 Chung G M, Fran Jr W T. J Liq Chromatogr, 1988; 11: 613
27 Bidlingmeyer B A. J Chromatogr Sci, 1997; 35: 392
28 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 176
29 J Chromatogr Sci, 1987; 25: 177
30 Chang H C K, Taylor L T. Anal Chem 1991; 63: 486
31 Eugene H J M J, Van den Berg R H, Bolb-Miedema R B, et al. J Chromatogr, 1991, 133
32 Heems D, Luck G, Fraudeau C, et al. J Chromatogr A, 1998; 798: 9
33 Pecavar A, Prosek M, Fercej-Temeljotov D. Chromatographia, 1990; 30: 159
34 Collar C, Martinez-Anaya M A. J Liq Chromatogr, 1994; 17: 3437
35 Neves J C, Moraes Z B. J High Resol Chromatogr, 1997; 20: 115
36 Hurst W J. J Liq Chromatogr, 1990; 13: 1
37 Lambert D, Eugene H J M Jansen, Rolaf van Leeuwen F X. J Chromatogr 1991; 553: 135
38 Calull M, Fabregas J, Marce R M. Chromatographia, 1991; 31: 272
39 Gomis D B, Picinelli Lobo A M, Alvarez M D G. Chromatographia, 1990; 29: 155
40 Alpert A J. J Chromatogr, 1990, 499: 177
41 Gunawan S, Walton N Y, Treiman D M. J Chromatogr, 1990, 503: 177
42 Jinwen Y, Xingjun F, Qingyun Z, Yuzhen S. Analytica Chimica Acta, 1998; 367: 69
43 Morvai M, Fabian V, Molnar-Perl I. J Chromatogr 1992; 600: 87
44 Molnar M. J Chromatogr Sci, 1991; 29: 222
45 Rajendra W. J L Chromatogr, 1987; 10: 941

46 Bjorklund J, Einarsson S, Engstrom A, Grzegorczyk A, Becker H D, Josefsson B. J Chromatogr A, 1998;798:1
47 Barcak T, Szalai G, Lorincz Z. J Liq Chromatogr, 1994;17:4391
48 Martens D A, Frankenberger Jr W T. J Liq Chromatogr, 1992;15:425
49 Merilouto J. Analytica Chimica Acta 1997;352:277
50 Fürst P, Pollack L, Graser T A. J Liq Chromatogr, 1989;12:2733
51 Bauch H J, Strauer E, Kelsch V. Chromatographia, 1989;28:78
52 Argoudelis C J. J Chromatogr A 1997;790:83
53 Qureshi S A, Huang H. J Liq Chromatogr, 1990;13:191
54 Lane J R, Webb L W, Acuff R V. J Chromatogr A, 1997;787:111
55 Inoue H, Ikeno M, Ishii Y, Tsuruta Y. J Chromatogr A, 1998;816:137
56 Olmedilla B, Granado F, Rojas-Hidalgo E. J Liq Chromatogr, 13:1455
57 J Chromatogr Sci, 1991;29:461
58 Goulner C, Girard L, Ferry S. Chromatography, 1991;32:523
59 Zhou D, Pietrzyk D J. Anal Chem, 1992;64:1003
60 Kanazawa H, Nagata Y, Kurosaki E. J Chromatogr, 1993;632:79
61 Dallüge J J, Nelson B C, Thomas J B. J Chromatogr A, 1998;793:265
62 Abidi S L, Mounts T L. J Chromatogr A, 1997;782:25
63 J Chromatogr Sci, 1988;26:595
64 J Chromatogr Sci, 1988;26:594
65 Blanco D, Sanchez L A, Gutierrez M D. J Liq Chromatogr, 1994;17:1525
66 Hahn A, Stein J, Ramp U. J Chromatogr, 1991;540:207
67 Wang N, Roets E, Hoogmartens J. Chromatographia, 1990;30:105
68 Cheng Y F, Phillips D J, Neue U. Chromatographia, 1997;44
69 Saarinen M, Siren H, Riekkola M L. J Liq Chromatogr, 1993;16:4063
70 Liu Z, Li T, Li J, Wang E. Analytical Chimica Acta 1997;338:57
71 J Chromatogr Sci, 1989;27:336
72 Lee H S, Kim K, Kim J H. Chromatographia, 1997;44:473
73 Abdulsayid M A, Wright J, Dickerson J W T, et al. Chromatogr, 1998;12:89
74 Obmacht R, Marcus Z, Soos J. Chromatographia, 1995;38:86
75 Yoe-dong Y. Biomed Chromatogr, 1998;12:47
76 Herráez-Hernández R, Campíns-Falcó P, Sevillano-Cabeza A. J Chromatogr Sci, 1997;35:169
77 J Chromatogr Sci, 1990;28:80
78 Nohta H. Analytica Chimica Acta, 1997;344:233
79 Wippgrath T, Kirsch D, Spengler B. Anal Chem, 1997;69:3855
80 J Chromatogr Sci, 1995;23:373
81 Ekeroth D J, Peumas J E, Manius A J. Chromatographia, 1991;32:436
82 Hermans-Lokkerbol A, et al. J Chromatogr, 479:1989;39–51
83 Justesen U, Knuthsen P, Leth T. J Chromatogr A, 1998;799:101
84 J Chromatogr Sci, 1991;29:176
85 Tomas-Barberan F A, Ferreres F, Blazquez M A. J Chromatogr, 1993;631:41
86 Crozier A, Jensen E, Lean M E J. J Chromatogr A, 1997;761:315
87 J Chromatogr Sci, 1988;26:193
88 J Chromatogr Sci, 1993;31:42
89 Ishii D, Takeuchi T. J Liq Chromatogr, 1988;11:1865
90 Vissers J P C, Claessens H A, Cramers C A. J Chromatogr A, 1997;779:1
91 Kuo K Y, Bornheim L M. J Chromatogr Sci, 1997;35:287
92 Andreoli R, Careri M, Manini P, et al. Chromatographia, 1997;44:606

93 J Chromatogr Sci, 1991,29,129

94 T Van Vliet, F van Schaik, J van Schoonhoven, et al. J Chromatogr, 1991,553,179

95 Vliet T V, Schaik F V, Schoonhoven J V. J Chromatogr, 1991,553,179

96 Minakuchi H, Nakanishi K, Soga N. J Chromatogr A, 1997,762,135

97 Ikegawa S, Itoh M, Goto J. J Liq Chromatogr, 1994,17,223

98 J Chromatogr Sci, 1990,28,47

99 Cvacka J, Barek J, Fogg A G, et al. Analyst, 1998,123,21

100 Kolbe A P, Dornberger U, Welsch T. Chromatographia, 1989,48,16

101 Edelkraut F, Brockmann U. Chromatographia, 1990,30(7/8),432~435

102 Felix G, Thienpont A, Dentraygues P. Chromatographia, 1993,36,177

103 J Chromatogr Sci, 1987,25,480

104 J Chromatogr Sci, 1987,25,175

105 Garcia A L, Gonzalez E B, Alonso J I G. Chromatographia, 1992,33,225

106 J Chromatogr Sci, 1987,25,176

107 J Chromatogr Sci, 1987,25,481

108 J Chromatogr Sci, 1987,25,120

109 J Chromatogr Sci, 1987,25,482

110 Brouwer E R, Liska I, Geerdink R B. Chromatographia, 1991,32,445

111 yokoyama Y, Sato H. J Chromatogr, 1991,555,155

112 Bohm H B, Feltes J, Volmer D. J Chromatogr, 1989,478,399

113 王建华,张豪,林荣明. 分析测试学报,1998,17,30

114 Coquart V, Hennion M C. J Chromatogr, 1992,600,195

115 Coco F L, Novelli V, Valentini C, et al. J Chromatogr Sci, 1997,35,578

116 J Chromatogr Sci, 1990,28,649

117 Hirayama C, Ihara H, Nagaoka S, et al. Chromatographia 1992,33(9/10)473~477

118 Castillo M, Puig D, Barcelo D. J Chromatogr A, 1997,778,301

119 J Chromatogr Sci, 1993,31,197

120 Lamparczyk H, Zarzycki P, Ochocka R J. Chromatographia, 1991,31,157

121 Lamparczyk H, Zarzycki P, Ochocka R J. Chromatographia, 1990,30,91

122 J Chromatogr Sci, 1993,31,65

123 Pyell U, Garrigues P. J Chromatogr A, 1994,660,223

124 J Chromatogr Sci, 1990,28,649

125 Braithwaite A, Smith F J. Chromatographia, 1990,130,120

126 Michael W Dong, Gretzberg A. J Liq Chromatogr, 1988,11(9/10),1887~1905

127 Lamprecht G, Huber J F K. Chromatographia, 1998,34,376

128 Brouwer E R, Liska I, Geerdink R B. Chromatographia, 1991,32,445

129 Garcia A L, Gonzalez E B, Alonso J I G. Chromatographia, 1992,33,225

130 Tena M T, Luque P. Chromatogr, 1992,44,449

131 Pergantis S A, Cullen W R, Chow D T. J Chromatogr A, 1997,764,211

132 Nondek L, Milofsky R E, Birks J W. Chromatographia, 1991,32,33

133 Rezaieh M, Hurtubise R J. J Liq Chromatogr, 1994,17,3351

134 Hirayama C, Ihara H, Nagaoka S. Chromatographia, 1992,33,473

135 Barbaro G P. J Chromatogr, 1992,600,115

136 Knize M G, Salmon C P, Hopmans E C, et al. J Chromatogr A, 1997,763,179

137 Kagali M N, Rubio-Barroso S, Polo-Diez L M. J Liq Chromatogr, 1994,17,3623

138 Gelbcke M, Prado A, Meggers C. Anal Chem, 1997,69,3832

139 Suzuki T, Yaguchi K, Kano I. J Chromatogr, 1993,643,173

140 Marko-Varga G, Barcelo D. Chromatographia, 1992, 34, 146

141 Jauregui O, Galceran M T. Analytica Chimica Acta, 1997, 340, 191

142 J Chromatogr Sci, 1992, 30, 155

143 Broch S C, Esteve-Romero J S, Alvarez-Coque M C G. Analyst, 1998, 123

144 Calabuig B, Dowd H G, Bless P A. J Liq Chromatogr, 1989, 12, 2707

145 Poulsen J R, Birks J W. Anal Chem, 1990, 62, 1242

146 Herbreteau B, Lafosse M, Morin-Allory L. Chromatographia, 1992, 33, 325

147 Olmedilla B, Granado F, Rojas-Hidalgo E. J Liq Chromatogr, 13: 1455

148 Lesellier E, Tchapla A, Marty C. J Chromatogr, 1993, 633: 9

149 Chromack, Bedem J W V D. J Chromatogr Sci, 1989, 27, 414

150 Scuppner H, Sauren S, Konwallnka G. Chromatographia, 1992, 34, 597-600

151 Papadoyannis I N, Samanidou V F, Theodoridis G A. J Liq Chromatogr, 1993: 16, 975

152 Possanzini M, Palo V D. Chromatographia, 1990, 29, 151

153 Touraine B, Astruc S. Chromatographia, 1990, 30: 388

154 J Chromatogr Sci, 1988, 26: 135

155 J Chromatogr Sci, 1991, 29: 539

156 Khurana A, H T C. J L Chromatogr, 1988, 11: 2894

157 Vinczé A, Huszar M L. J Liq Chromatogr, 1989, 12, 2887-2892

158 J Chromatogr Sci, 1988, 26, 242

159 J Chromatogr Sci, 1992, 30, 330

160 J Chromatogr Sci, 1995: 31, 441

161 J Chromatogr Sci, 1987, 25, 526

162 J Chromatogr Sci, 1988: 26, 243

163 J Chromatogr Sci, 1993, 31, 489

164 J Chromatogr Sci, 1993, 31, 530

165 J Chromatogr Sci, 1993, 31, 292

166 J Chromatogr Sci, 1987, 25, 527

167 J Chromatogr Sci, 1987, 25, 271

168 Rivas J D L, Millican J C G, Gomez R. J Chromatogr, 1991, 585: 168

169 Huang J L, Meleish M J. J Chromatogr, 1989, 473, 447

170 Adachi M, Ogawa K, Kuroda R. Chromatographia, 1990, 29, 579

171 Wessenberg M, Schoeffler I, Menagem E, et al. J Chromatogr A, 1997, 757, 89

172 Gulson M, Francis G W. Chromatographia, 1989, 27: 325

173 Nascimento R F, Marques J C, Neto B S L, et al. J Chromatogr A, 1997, 782, 13

174 Bailey R G, Nursten H E, McDowell I. J Chromatogr, 1991, 542: 115

175 Abidi S L, Mounts T L, Rennick K A. J Liq Chromatogr, 1994, 17: 3705

176 Scalia S, Francis G W. Chromatographia, 1989, 28: 129

177 Hurst W J. J Liq Chromatogr, 1990, 13: 1

178 Brouwer E R, Liska I, Geerdink R B. Chromatographia, 1991, 32, 445

179 Saleh M I, Pok F W. J Chromatogr A, 1997, 763: 173

180 Szentgyorgyi-Weris V, Dubois J G, Atassi G. J Chromatogr A, 1994, 662: 255

181 Szabo G, Csanyo E, Keresztes P. J Liq Chromatogr, 1989, 12, 2839

182 Yao J, Xingjun F, Qingrun Z, et al. Analytica Chimica Acta, 1996, 367, 69

183 J Chromatogr Sci, 1988, 26: 134

184 William R L, Johnston D L, Ray M A. Anal Chem, 1991, 63, 134

185 Akama Y, Iwadate T, Tong A, et al. J Chromatogr A, 1997: 789: 479

186 Yu J, Russiz E. J Liq Chromatogr, 1993, 16, 2091

187 Jen J, Lee H, Lee B. J Chromatogr A, 1998;795;378

188 Long A R, Hsieh L C, Short C R. J Chromatogr, 1989;475;404

189 Gennaro M C, Giacomini E, Angelino S, et al. J Chromatogr A, 1997;767;87

190 Kirkland J J, Henderson J W, DeStefano J J. J Chromatogr A, 1997;762;97

191 James K J, Furey A, Sherlock I R, Stack M A, et al. J Chromatogr A, 1998;798;147

192 Tena M T, Linares P, Castro M D L D. Chromatography, 1992;33;449

193 Forgacs E, Cserhati T. J Chromatogr, 1992;607;43

194 J. Chromatogr. Sci, 1993;31;240

195 Sadeghipour F, Veuthey J. J Chromatogr A, 1997;787;137

196 Sander L C, Parris R M, Wise S A. Anal Chem, 1981;53;2589

197 J Chromatogr Sci, 1988;26;296

198 J Chromatogr Sci, 1991;29;319

199 J Chromatogr Sci, 1987;25;271

200 J Chromatogr Sci, 1993;31;240

201 Guenikov G, Strong J R. J Chromatogr, 1991;587;282

202 J Chromatogr Sci, 1988;26;243

203 J Chromatogr Sci, 1988;26;36

204 J Chromatogr Sci, 1988;26;87

205 Poels I, Nagels L J, Verreyt G. Analytica Chimica Acta, 1998;370;105

206 J Chromatogr Sci, 1988;26;297

207 J Chromatogr Sci, 1988;26;102

208 Chuang C Z, Trowdale G, Lopez-S A. J Liq Chromatogr, 1994;17;3615

209 TakeUchi T, Asai M, Haraguchi H. J Chromatogr, 1990;499;549

210 GawdZik B, Czerwinska-Bil U. Chromatographia, 1991;32

211 Marit B. J Chromatogr, 1989;475;321

212 Roos R W, Lau-cam C A. J Chromatogr, 1991;555;278

213 Hongyan L, Yihan L, Jianzhen D, et al. J Chromatogr A, 1997;773;361

214 Heinmoller P, Kurth H H, Rabong R. Anal Chem, 1998;70;1437

215 Wilder D R, Tindall G W, Cunningham L J. J Chromatogr, 1993;635;221

216 Andreano V, Gatti R M, Dipleura A. J Liq Chromatogr, 1994;17;2919

217 J Chromatogr Sci, 1993;31;106

218 J Chromatogr Sci, 1988;26;193

219 Chyr Rongxwy. J Chromatogr, 1991;542;327

220 J Chromatogr Sci, 1992;30;112

221 Yi Z, Zhuang G S, Brown P R. Anal Chem, 1992;64;2826

222 Hirayama C, Ihara H, Nagaoka S. Chromatography, 1992;33;473

223 Hanaoka N. J Chromatogr, 1990;503;166

224 Cheng S, Baird M, Anderson H A, et al. J Chromatogr A, 1997;771;145

225 Miura J T. Anal Chem, 1990;62;1484

226 Minakuchi H, Nakanishi K, Soga N. J Chromatogr A, 1997;762;135

227 Nondek L, Milofsky R E, Birks J W. Chromatography, 1991;32;33

第十一章　反相离子对色谱、离子交换色谱和离子色谱谱图

第一节　阳离子色谱图

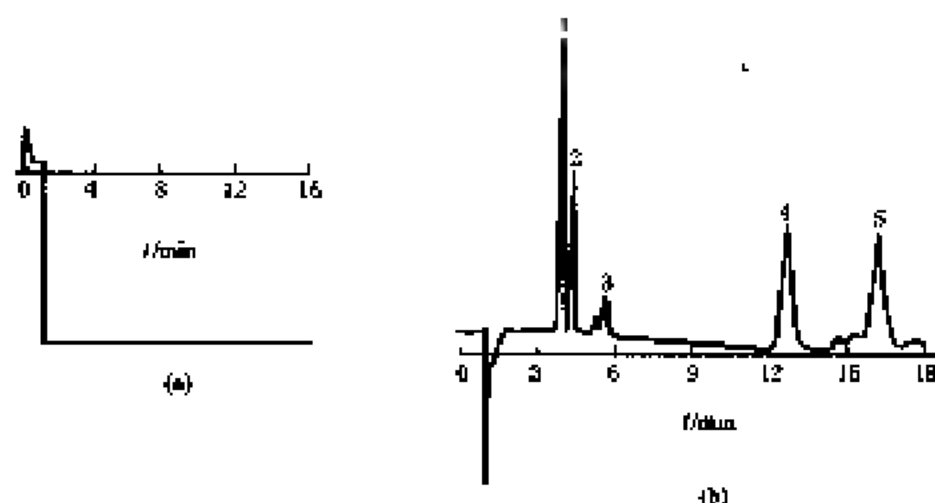


图 11-1　未处理的浓缩盐酸（a）与处理过的浓缩盐酸（b）色谱图[1]

色谱峰：1—Na^+；2—NH_4^+；3—K^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}

色谱柱：Universal 阳离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：35 ℃

流动相：3 mmol·L^{-1}甲基磺酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

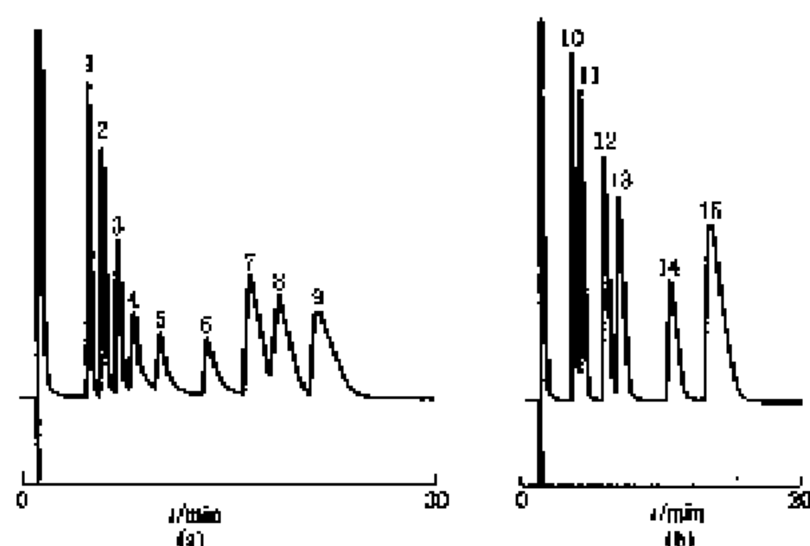


图 11-2　碱金属、碱土金属及过渡金属阳离子色谱图（　）[2]

(a) 碱和碱土金属离子色谱图；(b) 过渡金属阳离子色谱图

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Rb^+；6—Cs^+；7—Mg^{2+}；8—Ca^{2+}；9—Ba^{2+}；10—Pb^{2+}；11—Ni^{2+}；12—Zn^{2+}；13—Co^{2+}；14—Fe^{2+}；15—Cd^{2+}+Mn^{2+}

色谱柱：DeveLosil 30-5，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：1.5 mmol·L^{-1}草酸

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：间接电导

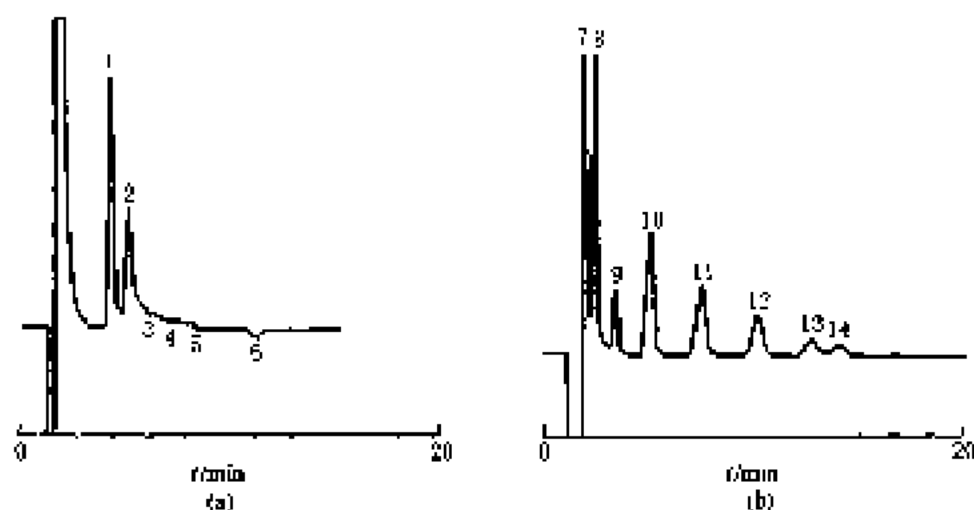


图 11-3 碱金属、碱土金属及过渡金属阳离子色谱图（二）[4]

（a）碱金属色谱图；（b）碱土和过渡金属阳离子色谱图

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Rb^+；6—Cs^+；7—Ni^{2+}；8—Co^{2+}；9—Fe^{2+}；10—Mn^{2+}；11—Mg^{2+}；12—Ca^{2+}；13—Sr^{2+}；14—Ba^{2+}

色谱柱：Nomura Chemical (Seto, Japan) Develosil 30-5 孔径 spherical 未改性硅胶，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：35°C

流动相：乙二胺（pH5.5）

检测器：电导

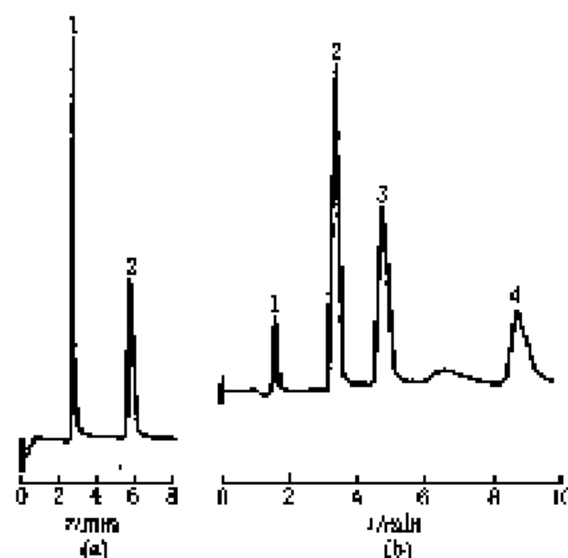


图 11-4 阳离子表面活性剂等度分离色谱图[5]

(a) 等度分离短链阳离子表面活性剂色谱图

色谱峰：1—四甲基铵（20 μl·L^{-1}）；2—四丙基铵（20 μl·L^{-1}）

色谱柱：Alltech Surfactant/R，150 mm×4.6 mm（内径）(P/N，2510L)

流动相：2 mmol·L^{-1}九氟戊酸+30%乙腈

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导

(b) 等度分离长链阳离子表面活性剂色谱图

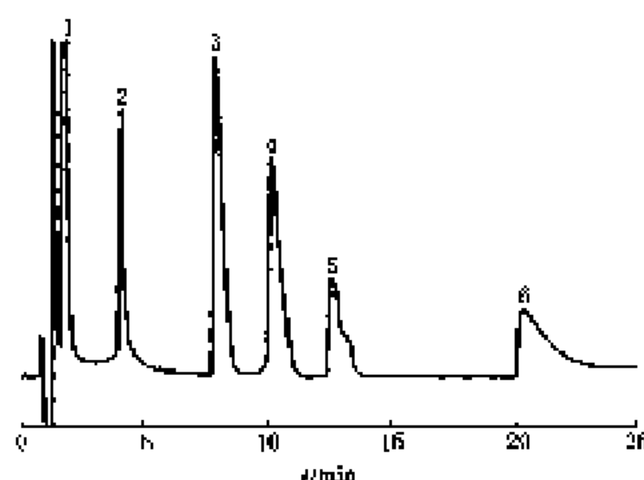
色谱峰：1—四丁基铵（10 μl·L^{-1}）；2—十二烷基三甲基铵（20 μl·L^{-1}）；3—十六烷基三甲基铵（20 μl·L^{-1}）；4—十四烷基三甲基铵（20 μl·L^{-1}）

色谱柱：Alltech Surfactant/R，150 mm×4 mm（内径）(P/N，2510L)

流动相：2 mmol·L^{-1}九氟戊酸+45%乙腈

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导



色谱峰：1—Fe（Ⅱ）；2—Cu（Ⅱ）；3—Co（Ⅲ）；4—Fe（Ⅲ）；5—Ni（Ⅱ）；6—Cr（Ⅲ）

色谱柱：NOVa-Pak C_{18}反相柱，150 mm×3.9 mm

预　柱：NOVa-Pak C_{18}，5 mm×3.9 mm

流动相：150 mmol·L^{-1} H_3PO_4＋60 mmol·L^{-1} TBAOH＋25%CH_3CN＋0.46 mmol·L^{-1} $NaClO_4$

检测器：UV（215 nm）

图 11-5　6种金属-氰化物络合物优化分离色谱图[4]

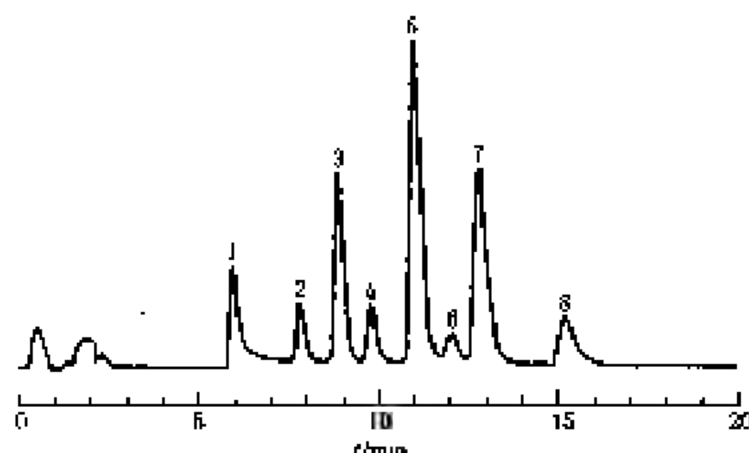


图 11-6　8种过渡金属和重金属标准溶液分离色谱图[4]

色谱峰：1—Fe^{3+}；2—Cu^{2+}；3—Ni^{2+}；4—Zn^{2+}；5—Co^{2+}；6—Cd^{2+}；7—Mn^{2+}；8—Fe^{2+}

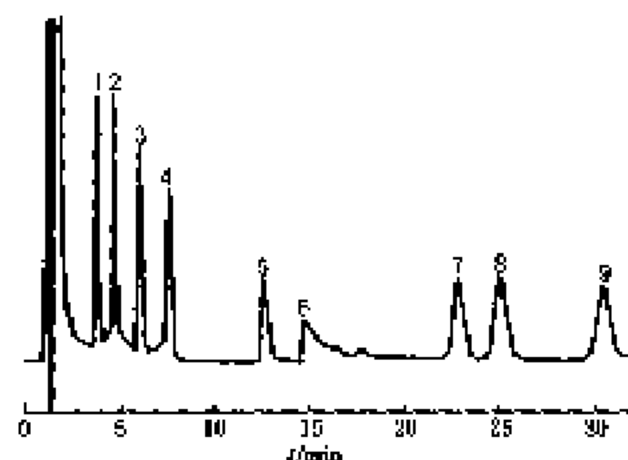
色谱柱：IonPac CG5A＋CS5A

柱　温：室温

流动相：7 mmol·L^{-1} PDCA＋66 mmol·L^{-1} KOH＋5.6 mmol·L^{-1} K_2SO_4＋74 mmol·L^{-1} HCOOH（pH4.2）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：可见吸收（530 nm）



色谱峰：1—Mo（Ⅳ）；2—Cu（Ⅰ）；3—Co（Ⅲ）；4—Fe（Ⅱ）；5—Ni（Ⅱ）；6—Cr（Ⅲ）；7—Pd（Ⅱ）；8—Pt（Ⅱ）；9—Au（Ⅰ）

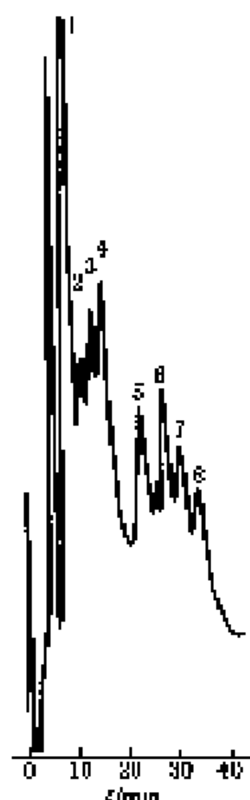
色谱柱：NOVa-Pak C_{18}反相柱，150 mm×3.9 mm

预　柱：NOVa-Pak C_{18}，5 mm×3.9 mm

流动相：150 mmol·L^{-1} H_3PO_4＋60 mmol·L^{-1} TBAOH＋25%CH_3CN＋2.84 mmol·L^{-1} $NaClO_4$

检测器：UV（215 nm）

图 11-7　9种金属氰化络合物优化分离色谱图[4]



色谱峰：1—La（Ⅲ）；Ce（Ⅲ）；Pr（Ⅲ）；Nd（Ⅲ）；2—Sm（Ⅲ）；3—Eu（Ⅲ）；4—Gd（Ⅲ）；5—Tb（Ⅲ）；6—Dy（Ⅲ）；7—Ho（Ⅲ）；8—Er（Ⅲ）

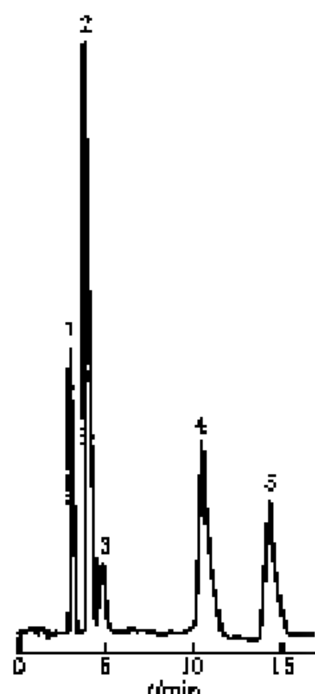
色谱柱：填充 Dionex CS-5，25 cm×4.6 mm（内径）

流动相：草酸（0.08 mol·L^{-1}，pH4.5）—二甘醇酸（0.095 mol·L^{-1}）

检测器：紫外，λ_{max}=495 nm

柱后试剂：PAR（5×10^{-5} mol·L^{-1}）-ZnEDTA（1×10^{-4} mol·L^{-1}）/氨-氯化铵缓冲液（0.3 mol·L^{-1}，pH10）

图 11-8 镧系元素分离色谱图[6]



色谱峰：1—Bi^{3+}；2—Fe^{3+}；3—Co^{2+}；4—Cu^{2+}；5—Pb^{2+}

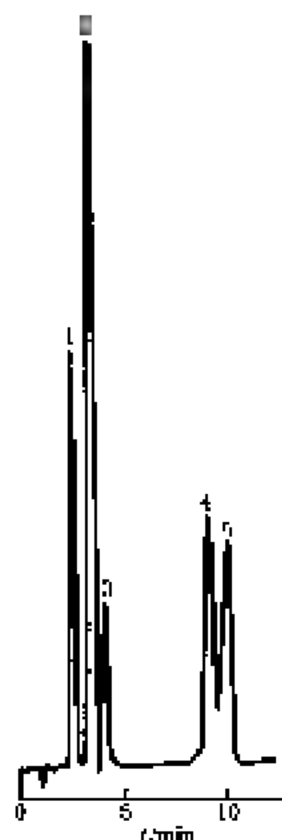
色谱柱：RP-18 LiChrospher，25.0 cm×4.5 mm（内径），10 μm

流动相：缓冲液：50 mmol·L^{-1}甲酸，1.0 mmol·L^{-1} Na_2EDTA，4.0 mmol·L^{-1} $(C_4H_9)_4NOH$，10 mmol·L^{-1} $NaNO_3$，以NaOH调至pH3.3；体积比=95∶5的缓冲液-甲醇

柱温：室温

检测器：0～8 min UV（260 nm），8 min～结束 UV（242 nm）

图 11-9 EDTA 预配合金属离子的反相 HPLC 分离谱图（pH3.3）[7]



色谱峰：1—Bi^{3+}-EDTA；2—Fe^{3+}-EDTA；3—Co^{2+}-EDTA；4—Cu^{2+}-EDTA；5—Pb^{2+}-EDTA

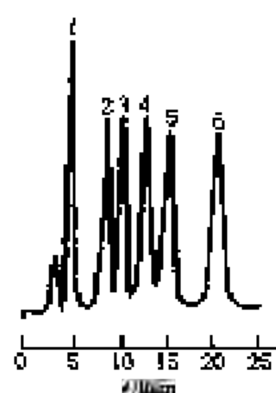
色谱柱：RP-18 LiChrospher，25.0 cm×4.5 mm（内径），10 μm

流动相：用NaOH将pH调至3.8

柱温：室温

检测器：0～6 min（UV 260 nm），6 min～结束（UV 242 nm）

图 11-10 EDTA 预配合金属离子的反相 HPLC 分离谱图（pH3.8）[7]



色谱峰：1—Cu^{2+}；2—Ni^{2+}；3—Zn^{2+}；4—Pb^{2+}；5—Co^{2+}；6—Cd^{2+}

色谱柱：YSG SO_3Na 阳离子交换树脂，100 mm×6 mm（内径）

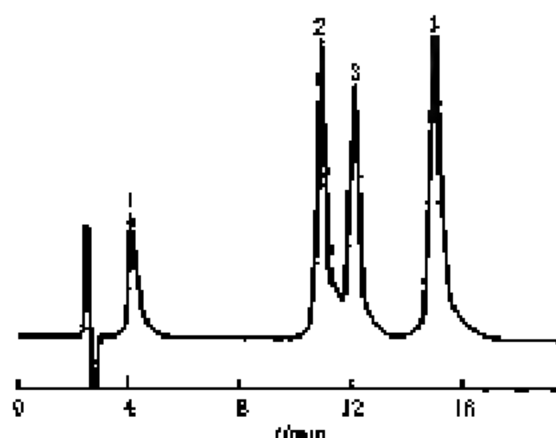
流动相：0.100 mol·L^{-1}酒石酸钠－1.55×10^{-2} mol·L^{-1}柠檬酸钠＋0.150 mol·L^{-1} NaCl (pH4.1)

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测，电解液　0.01 mol·L^{-1} CuDTPA-0.1 mol·L^{-1} NH_4NO_3-0.1 mol·L^{-1}氨溶液

检测电势　0.75V $Fe(CN)_6^{3-}$-$Fe(CN)_6^{4-}$

图 11-11　6 种重金属阳离子分离色谱图[14]



色谱峰：1—Ru；2—Cu；3—Co；4—Rh

色谱柱：Nucleosil C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：乙腈＋水（体积比＝30：70），内含有 0.01 mol·L^{-1}乙酸-乙酸钠缓冲液 (pH5.0)，0.01 mol·L^{-1} TBABr

检测器：UV（580 nm）

图 11-12　Ru（Ⅲ）-，Rh（Ⅲ）-，Co（Ⅱ）-和 Cu（Ⅱ）-PAN-6S 螯合物色谱图[1]

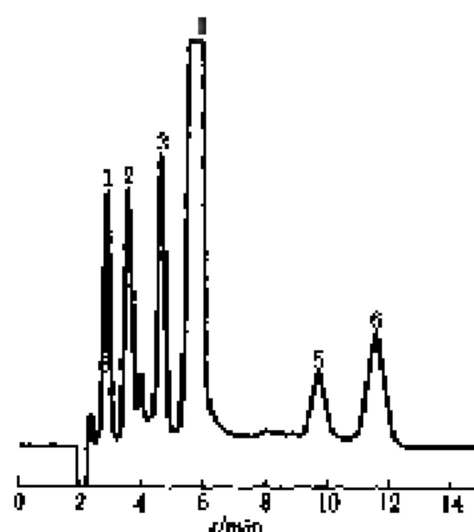


图 11-13　Viverone 湖水样分析色谱图[18]

色谱峰：1—Ni^{2+}（200 μg·L^{-1}）；2—Cu^{2+}（200 μg·L^{-1}）；3—V^{4+}（300 μg·L^{-1}）；4—PCB (0.1mmol·L^{-1})；5—Co^{2+}（300 μg·L^{-1}）；6—Fe^{3+}（300 μg·L^{-1}）

色谱柱：Lichrocart Cartridge 包含 Lichrospher 100 RP-18 材料，250 mm×4 mm（内径）

流动相：水＋甲醇（体积比＝45：55），内含有 20 mmol·L^{-1}乙酸，5 mmol·L^{-1} TBA，30 mmol·L^{-1} NaCl，(pH4.7)

氧化电势：800 mV

检测器：ESA Coulochem Ⅱ



图 11-1? 8 种二价无机阳离子分离色谱图[31]

色谱峰：1—Ni^{2+}；2—Co^{2+}；3—Fe^{2+}；4—Cd^{2+}；5—Mn^{2+}；6—Mg^{2+}；7—Sr^{2+}；8—Ba^{2+}

色谱柱：GYQG SiO_2, micropacked..., 5 μm

柱　温：30 ℃

淋洗液：2 mmol·L^{-1} 1,2-乙二胺+4 mmol·L^{-1} 柠檬酸，pH3.80

流　速：0.5ml·min^{-1}

检测器：电导

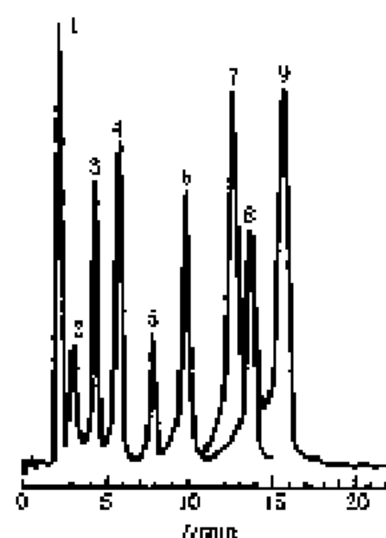


图 11-15　二价、三价金属阳离子分离色谱图（一）[32]

色谱峰：1—Fe^{3+}；2—Cu^{2+}；3—Pb^{2+}；4—Ni^{2+}；5—Co^{2+}；6—Cd^{2+}；7—Ca^{2+}；8—Mn^{2+}；9—Mg^{2+}

色谱柱：磺酸乙基化 BioGel SEC7 阳离子交换剂（Q=0.13 mmol·ml^{-1}床体积）

流动相：0.1 mol·L^{-1}酒石酸（pH3.10），用 NaOH 调节

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV，柱后检测 Zn-EDTA-PAR

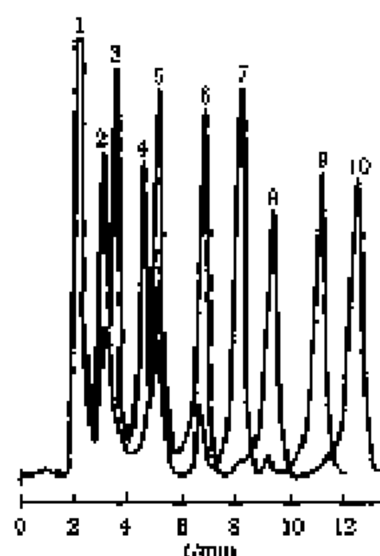


图 11-16　二价、三价金属阳离子分离色谱图（二）[32]

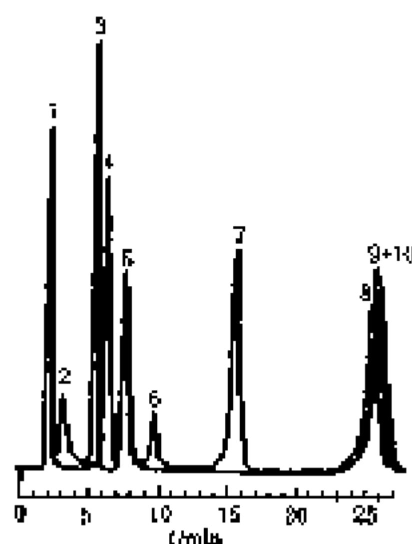
色谱峰：1—Fe^{3+}；2—Cu^{2+}；3—Pb^{2+}；4—Zn^{2+}；5—Ni^{2+}；6—Co^{2+}；7—Cd^{2+}；8—Ca^{2+}；9—Mn^{2+}；10—Mg^{2+}

色谱柱：磺酸丁酰化 BioGel SEC7 阳离子交换剂

流动相：0.1 mol·L^{-1}酒石酸（pH3.10）用 NaOH 调节

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器　柱后检测 Zn-EDTA-PAR



色谱峰：1—Fe^{3+}，2—Cu^{2+}，3—Zn^{2+}，4—Ni^{2+}，5—Pb^{2+}，6—Co^{2+}，7—Cd^{2+}，8—Mn^{2+}，9—Ca^{2+}，10—Mg^{2+}

色谱柱：羧酸丙烯化 BioGel SEC? 阳离子交换剂（Q＝0.43 mmol·ml^{-1}床体积）

流动相：0.175 mol·L^{-1}酒石酸（pH3.42）（用 NaOH 调节）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV，柱后检测 Zn-EDTA-PAR

图 11-17　二价、三价金属阳离子分离色谱图（三）[13]

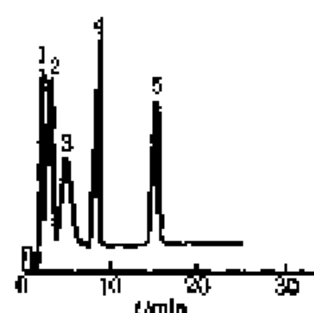


图 11-18　二价阴阳离子同时分离色谱图[14]

色谱峰：1—Mg^{2+}，2—Sr^{2+}，3—Ba^{2+}，4—Cl^{-}，5—Br^{-}

色谱柱：Dionex HPLC-CS5

流动相：0.5 mmol·L^{-1} $Ce(NO_3)_3$

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：IPD（254 nm）

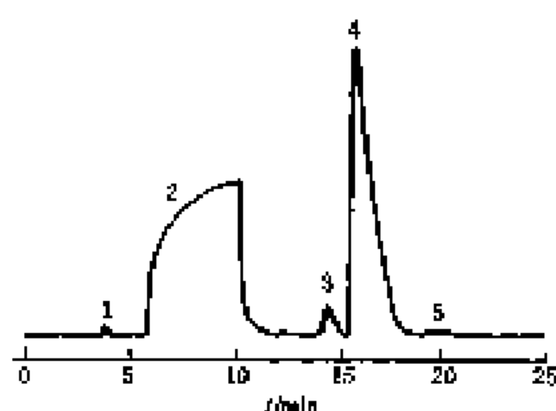


图 11-19　土壤样品中乙酸铵萃取物色谱图[15]

色谱峰：1—Na^{+}，2—NH_4^{+}，3—Mg^{2+}，4—Ca^{2+}，5—K^{+}

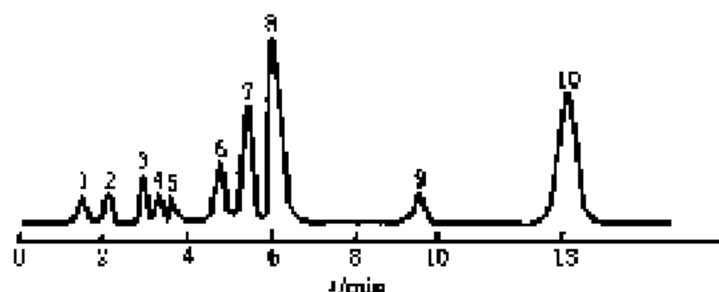
色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

柱　温：40℃

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4＋9%乙腈

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器



色谱峰：1—TA，2—NB，3—V，4—ZR，5—PB，6—FE，7—CU，8—NI，9—CO，10—MN

色谱柱：填充 Spherisorb S-5 ODS-1，300 mm×3.9 mm（内径）

流动相：10^{-4} mol·L^{-1}季铵硫酸盐＋8.308×10^{-2} mol·L^{-1}酒石酸缓冲液（pH6.0）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（580 nm）

图 11-20　不锈钢样品（SRMC 1151）的 TAR 金属络合物分离色谱图[16]

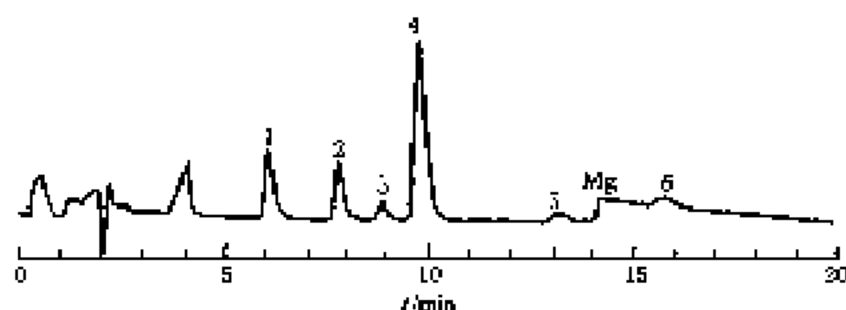


图 11-21　井水样品中过渡金属阳离子的色谱图[illegible]

样液为 HCl (pH2)，在上柱前 1：5 稀释

色谱峰：1—Fe^{3+} (76.8 μg·L^{-1})；2—Cu^{2+} (0.55 mg·L^{-1})；3—Ni^{2+} (15.6 μg·L^{-1})；4—Zn^{2+} (0.61 mg·L^{-1})；5—Mn^{2+} (18.2 μg·L^{-1})；6—Fe^{2+} (25.7 μg·L^{-1})；

色谱柱：IonPac CS 5A (Dionex)，250 mm×4 mm（内径）

保护柱：IonPac CS 5A，50 mm×4 mm（内径）

检测器：可见吸收 (530 nm)

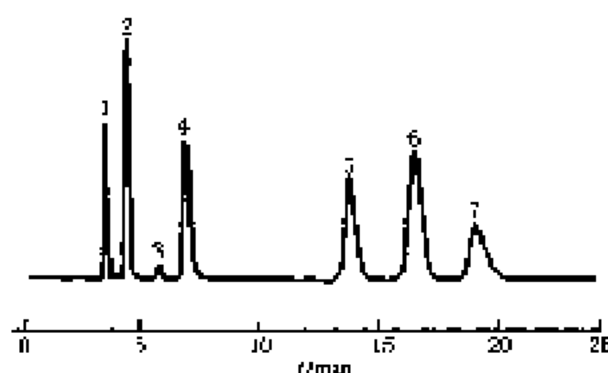


图 11-22　从 6 种普通阳离子中进行乙醇胺分离色谱图[34]

色谱峰：1—Li^{+}；2—Na^{+}；3—乙醇胺；4—NH_4^{+}；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}；7—K^{+}

色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

柱　温：40℃

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4 + 9%乙腈

流　速：1.2 mL·min^{-1}

检测器：电导检测器

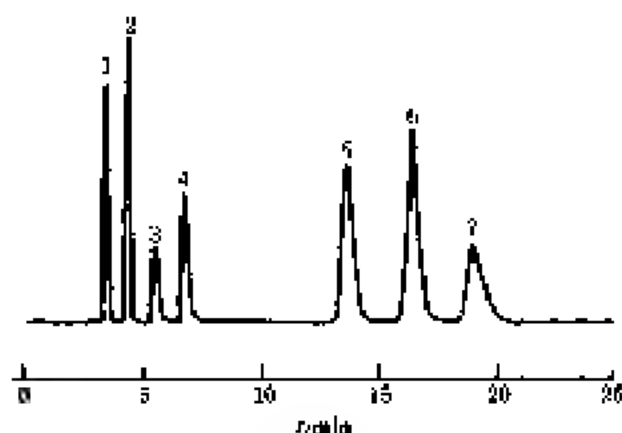


图 11-23　从 6 种普通阳离子中进行等度分离吗啉色谱图[34]

色谱峰：1—Li^{+}；2—Na^{+}；3—吗啉；4—NH_4^{+}；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}；7—K^{+}

色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

柱　温：40℃

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4 + 9%乙腈

流　速：1.2 mL·min^{-1}

检测器：电导检测器

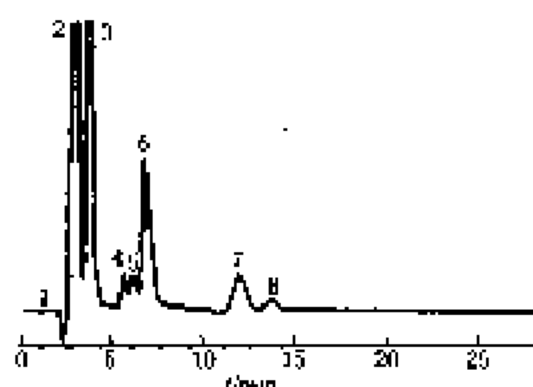


图 11-24　酸枣仁浸取液中阳离子色谱图[36]

色谱峰：1，2—系统峰；3—甲醇；4—Na^{+}；5—NH_4^{+}；6—K^{+}；7—Mg^{2+}；8—Ca^{2+}

色谱柱：ICS-C25（4.6 mm×150 mm，硅胶基质-COOH功能基）

淋洗液：均苯四甲酸（2.5 mmol·L^{-1}）

流　速：0.6 ml·min^{-1}

柱　温：40℃

检测器：电导

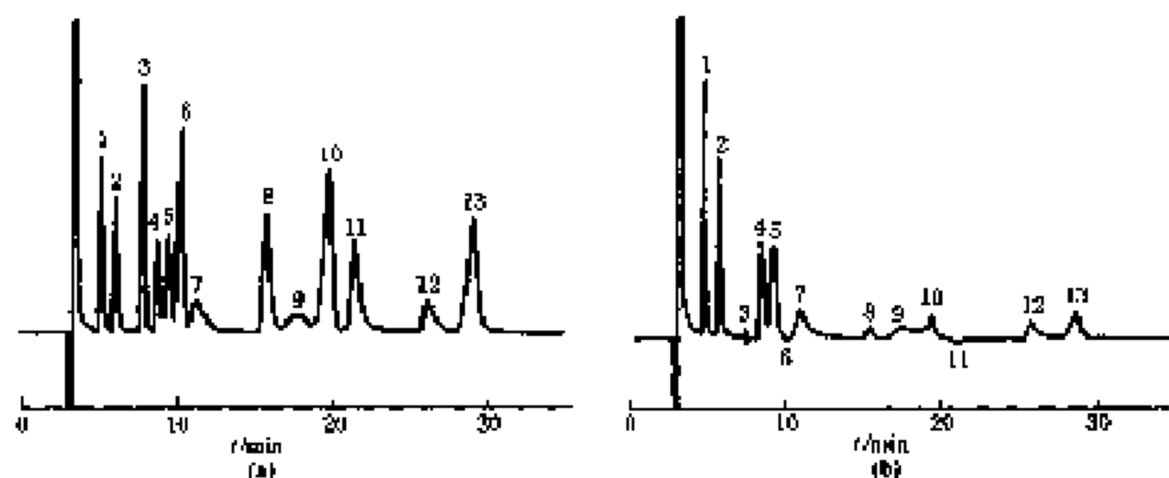


图 11-25　无机阴离子和二价阳离子色谱图[37]

(a) 含有阳离子交换膜抑制器；(b) 不含有阳离子交换膜抑制器

色谱峰：1—Mg^{2+}；2—Ca^{2+}；3—Cl^{-}；4—Mn^{2+}；5—Co^{2+}；6—NO_3^{-}；7—Ni^{2+}；8—I^{-}；9—Zn^{2+}；10—SO_4^{2-}；11—SCN^{-}；12—Cd^{2+}；13—$S_2O_3^{2-}$

色谱柱：填充 Tosoh TSK 硅，5 μm，250 mm×4.6 mm

流动相：1,2,4,5-苯四酸（0.15 mmol·L^{-1}）pH5.4

检测器：电导检测

再生剂：10 mmol·L^{-1} H_2SO_4（1.5 ml·min^{-1}）

样　品：0.05 mmol·L^{-1} $CaCl_2$、$CdCl_2$、$Co(NO_3)_2$、$Ni(NO_3)_2$、$MgSO_4$、$MnSO_4$、$ZnSO_4$，0.15 mmol·L^{-1} $Na_2S_2O_3$，0.2 mmol·L^{-1} KI 和 0.2 mmol·L^{-1} KSCN

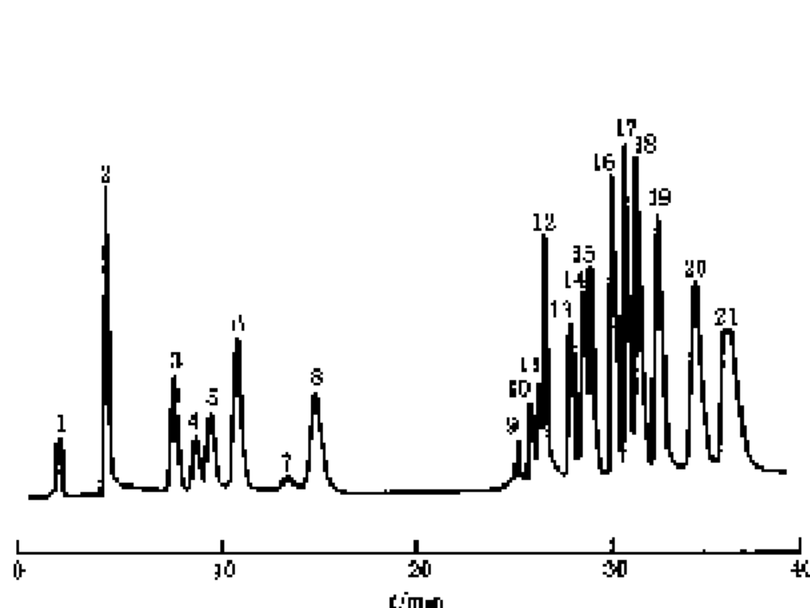


图 11-26　以 PAR 作柱后螯合剂的过渡金属和稀土金属离子的分离谱图[16]

色谱峰：1—Zr；2—Fe；3—Cu；4—Ni；5—Zn；6—Co；7—Mn；8—Fe；9—La；10—Ce；11—Pr；12—Nd；13—Sm；14—Eu；15—Gd；16—Tb；17—Dy；18—Ho；19—Er；20—Tm；21—Yb

色谱柱：300 mm×3.9 mm（内径）

流动相：辛烷磺酸盐缓冲液＋酒石酸（pH5.5）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（535 nm）

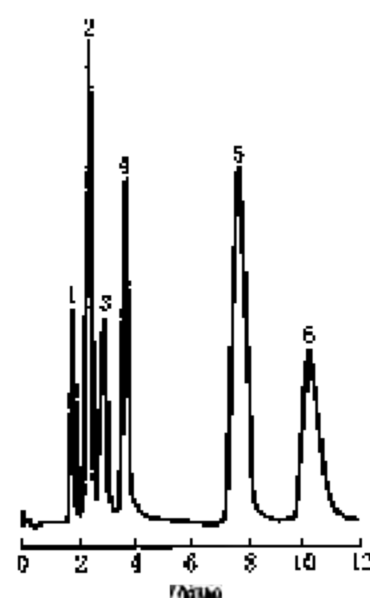


图 11-27　阳离子（以盐酸为洗脱剂）分离色谱图[19]

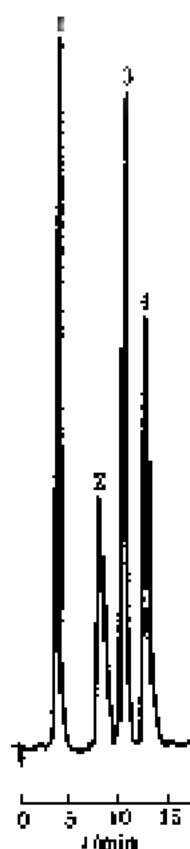
色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}

色谱柱：Universal Cation，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：3 mmol·L^{-1}盐酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测



色谱峰：1—亚砷酸盐；2—DMA；3—MMA；4—砷酸盐

色谱柱：填充硅阳离子交换剂（Vydac 302-IC，10 μm），250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：40℃

流动相：磷酸缓冲液 1 mmol·L^{-1}（pH6.3）

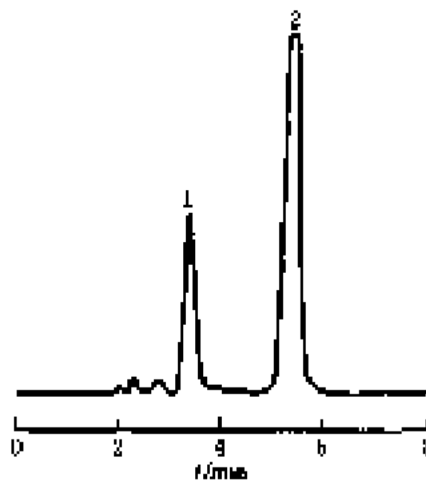
流　速：1 ml·min^{-1}

进样量：20 μl

样品浓度：100 mg·L^{-1}

检测器：UV（190 nm）

图 11-28　4 种含砷化合物分离的阳离子交换色谱图[20]



色谱峰：1—Cu^{2+}；2—Plastoquinone H

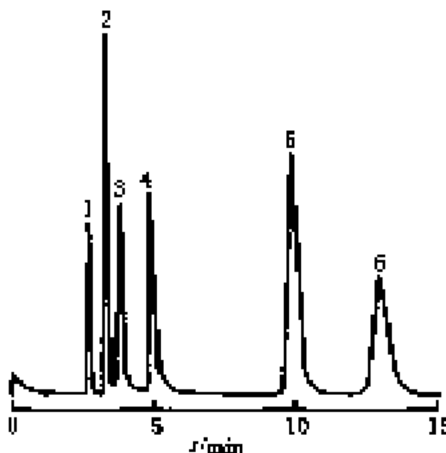
色谱柱：Lichrocart Cartridge 包含 Li-chrospher 100RP-18 材料，250 mm×4 mm（内径）

流动相：水+甲醇（体积比=45∶55），内含有 20 mmol·L^{-1}乙酸，5 mmol·L^{-1} TBA，30 mmol·L^{-1} NaCl（pH5.5）

氧化电势：800 mV

检测器：ESA Coulochem Ⅱ

图 11-29　市自来水样分析色谱图[illegible]



色谱峰：1—Li^{+}；2—Na^{+}；3—NH_4^{+}；4—K^{+}；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}

色谱柱：Universal Cation，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：1.5 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

图 11-30　用 H_2SO_4 为洗脱剂分离阳离子色谱图[illegible]

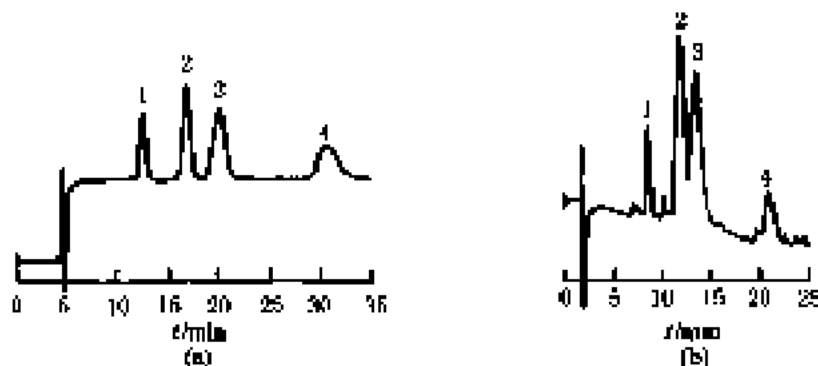


图 11-31　用弱电导流动相对阳离子电洗脱色谱图[21]

(a) 没有外加电压；(b) 固定外加电压 28 V

色谱峰：1—Li^{+}；2—Na^{+}；3—NH_4^{+}；4—K^{+}

色谱柱：Cation，30 mm×4.6 mm（内径）

流动相：0.1 mmol·L^{-1}甲磺酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

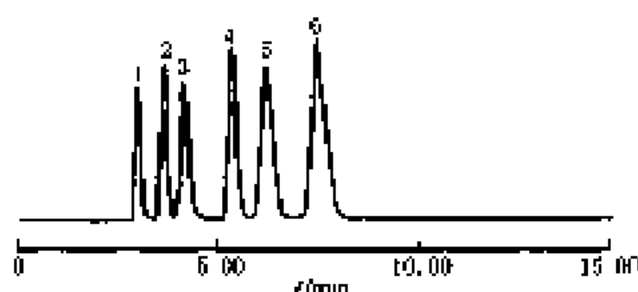


图 11-32　碱金属阳离子的快速分析色谱图[14]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}

色谱柱：IonPac CG12A 和 CS12A

淋洗液：15 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：CD20 压缩电导检测器

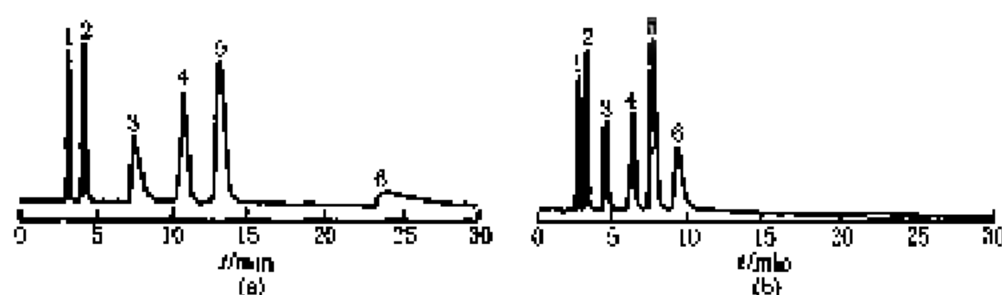


图 11-33　阳离子（在 CS16 柱上以 NH_4OH 作为洗脱剂）的分离色谱图[14]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}；6—K^+

色谱柱：IonPac CG16 和 CS16

淋洗相：(a) 7.5 mmol·L^{-1} H_2SO_4；

(b) 7.5 mmol·L^{-1} H_2SO_4＋7.5 mmol·L^{-1} NH_4OH

流　速：1.2 mL·min^{-1}

检测器：CD20 压缩电导检测器

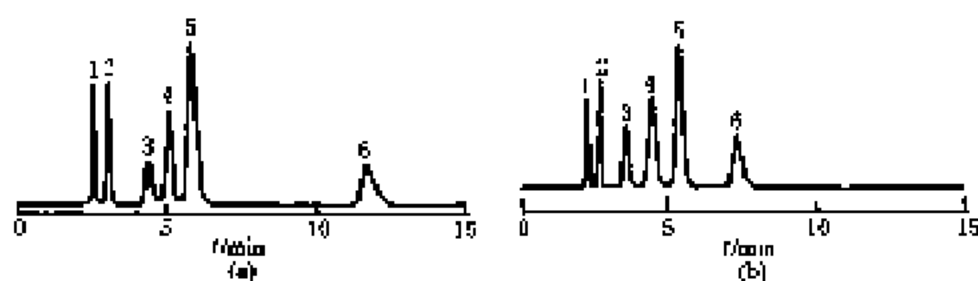


图 11-34　阳离子（在 CS16 柱上）的快速分析色谱图[14]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}；6—K^+

色谱柱：IonPac CG16 和 CS16

柱　温：40℃

淋洗相：(a) 8 mmol·L^{-1} H_2SO_4＋13%乙醇；

(b) 15 mmol·L^{-1}甲磺酸＋7.5 mmol·L^{-1} $NH_3 \cdot H_2O$＋5%乙腈

流　速：1.2 mL·min^{-1}

检测器：CD20 压缩电导检测器

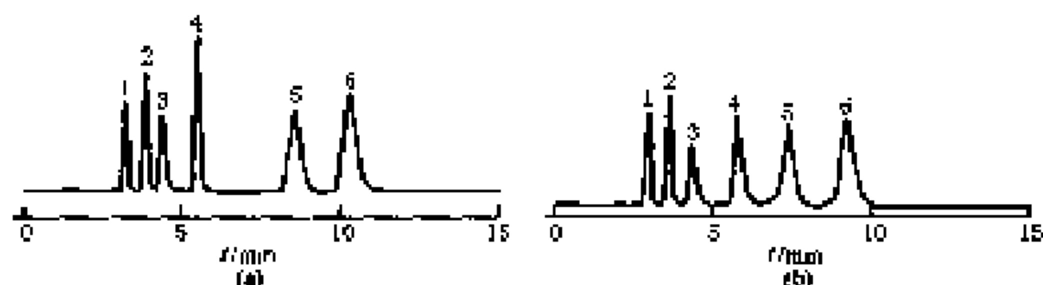


图 11-35　6 种普通阳离子在两个羧酸聚合固定相上等度分离谱图[14]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+} (5mg·L^{-1})

固定相：(a) IonPacCS12A；(b) IonPacCS12

流动相：11 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：电导检测器

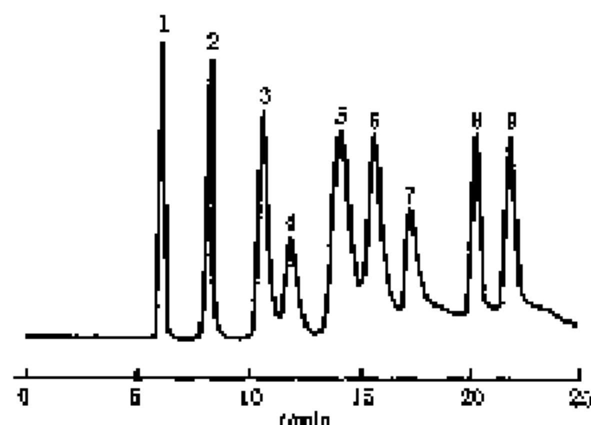


图 11-36　6 种普通阳离子和乙醇胺在羧酸柱上分离的梯度洗脱色谱图[14]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—乙醇胺；5—二乙醇胺；6—K^+；7—三乙醇胺；8—Mg^{2+}；9—Ca^{2+}

色谱柱：IonPac CS12

流动相：甲磺酸

梯度冲洗：5 mmol·L^{-1}甲磺酸 $\xrightarrow{18\ min}$ 21 mmol·L^{-1}甲磺酸

检测器：电导检测器

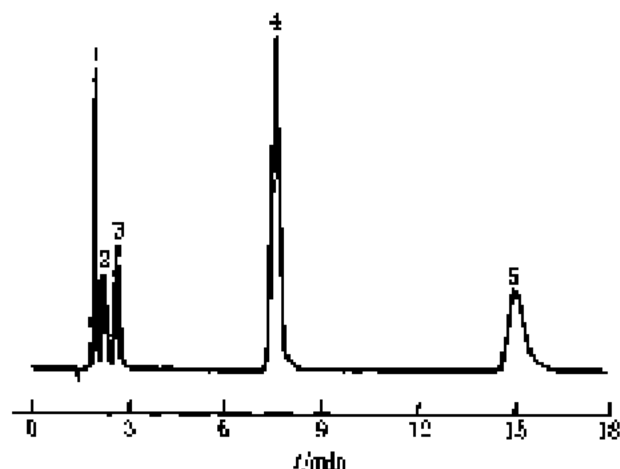


图 11-37　普通阳离子在磺酸化聚合固定相上等度分离谱图[15]

色谱峰：1—Na^+；2—NH_4^+；3—K^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}

色谱柱：IonPac CS10 (dionex)

流动相：40 mmol·L^{-1} HCl+4 mmol·L^{-1} 2，3-二氨丙酸-盐酸化物

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器

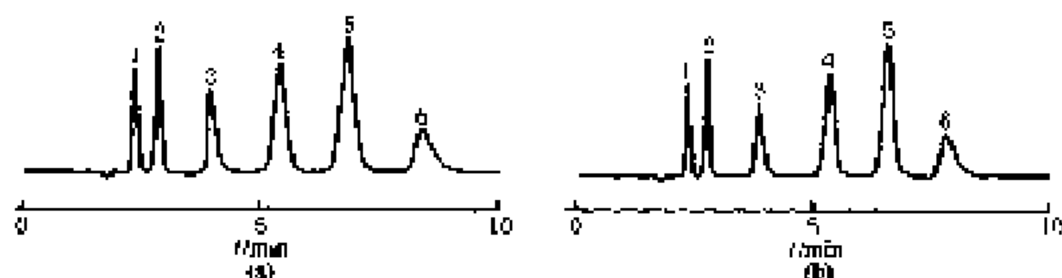


图 11-38 温度对阳离子分离影响谱图（洗脱剂包含 $NH_3 \cdot H_2O$）[16]

(a) 25 ℃；(b) 40 ℃

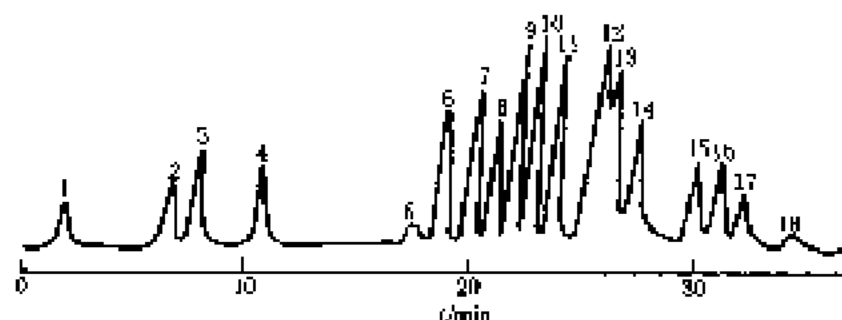
色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}；6—K^+

色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

流动相：15 mmol·L^{-1}甲磺酸—7.5 mmol·L^{-1} $NH_3 \cdot H_2O$

流 速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：CD20 压缩电导检测器



色谱峰：1—Zr；2—Cu；3—Zn；4—Co；5—La；6—Ce；7—Pr；8—Nd；9—Sm；10—Eu；11—Gd；12—Tb；13—Dy；14—Ho；15—Er；16—Tm；17—Yb；18—Lu

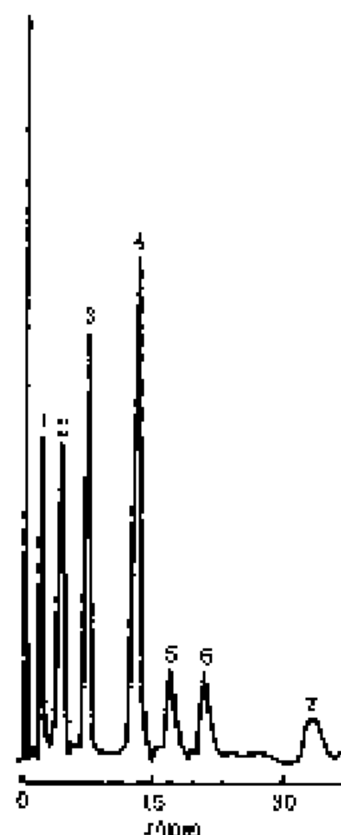
色谱柱：300 mm×3.9 mm（内径）

流动相：辛磺酸盐缓冲液+酒石酸（pH 3.5）

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（600 nm）

图 11-39 过渡金属与稀土金属离子分离谱图[17]



色谱峰：1—Cu^{2+}；2—Zn^{2+}；3—Co^{2+}；4—Fe^{2+}；5—Mn^{2+}；6—Cd^{2+}；7—Pb^{2+}

色谱柱：相互作用 MCI-210 磺酸化聚苯乙烯-二乙烯基苯，10 cm×3.2 mm（内径），5 μm

流动相：10.0 mmol·L^{-1}柠檬酸，4.5 mmol·L^{-1} 1,2-二乙胺

流 速：1.0 ml·min^{-1}

柱 温：室温

检测器：电导

图 11-40 过渡金属阳离子谱图[18]

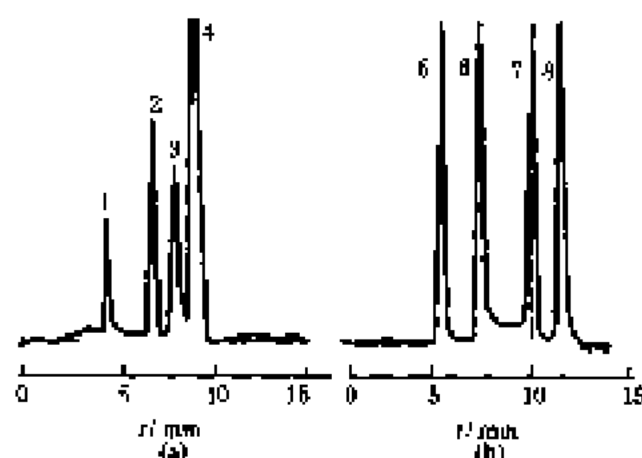


图 11-41 阳离子分离色谱图 (一)[23]

色谱峰：1—Co；2—Zn；3—Fe；4—HL；5—Cu；6—HL；7—Ni；8—Co

色谱柱：Kusaisorb LC-ODS-300-5，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：40 ℃

流动相：(a) 丙酮+水（体积比=55∶45）+1×10^{-3} mol·L^{-1} NH_4SCN

(b) 乙腈+水（体积比=60∶40）+1×10^{-3} mol·L^{-1} NH_4SCN

流　速：0.8 mL·min^{-1}

检测器：UV（400 nm～800 nm）



图 11-42 阳离子分离色谱图 (二)[24]

色谱峰：1—Mn^{2+}；2—Co^{2+}；3—Ni^{2+}；4—Cu^{2+}

色谱柱：C_{18}键合 Separon SGX RPS，150 mm×3.0 mm（内径），5μm

流动相：2 mmol·L^{-1} TBA—OH+2 mmol·L^{-1}草酸+φ=10%甲醇（pH4.5）

检测器：UV（254 nm）

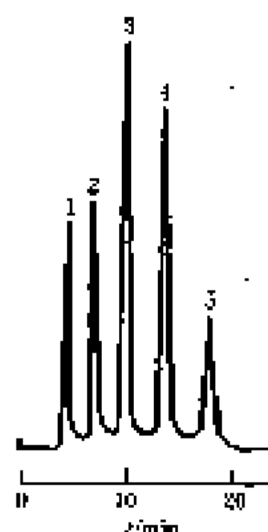


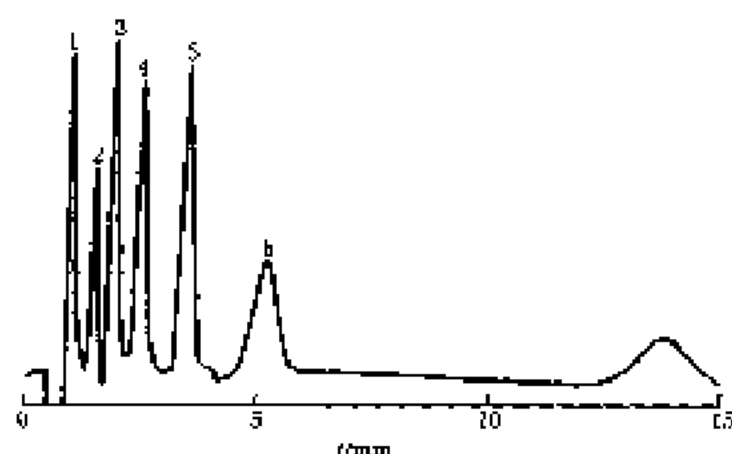
图 11-43 阳离子分离色谱图 (三)[24]

色谱峰：1—Cd^{2+}；2—Pb^{2+}；3—Co^{2+}；4—Zn^{2+}；5—Ni^{2+}

色谱柱：C_{18}键合 Separon SGX RPS，150 mm×3.0 mm（内径），5 μm

流动相：2 mmol·L^{-1} TBA-OH+2 mmol·L^{-1}草酸+φ=6%甲醇（pH4.5）

检测器：UV（520 nm），柱后用PAR衍生化反应



色谱峰：1—Na^+；2—NH_4^+；3—K^+；4—Rb^+；5—Cs^+；6—Mg^{2+}；7—Ca^{2+}

色谱柱：相互作用 MC-220，磺酸化聚苯乙烯-二乙烯基苯，10 cm×3.2 mm（内径），5 μm

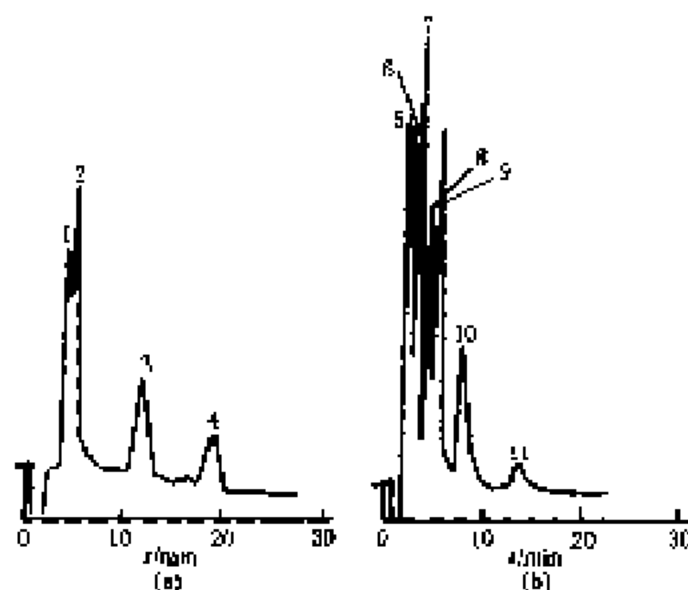
淋洗液：0.45 mmol·L^{-1} $CuSO_4$

流　速：1.0 mL·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV (254 nm) 逆转信号

图 11-44　碱金属和碱土金属阳离子色谱图[35]



色谱峰：1—Sr^{2+}；2—Ba^{2+}；3—Cl^-；4—Br^-；5—Li^+；6—Na^+；7—Rb^+；8—F^-；9—Cl^-；10—Br^-；11—I^-

色谱柱：(a) Polyzon-2；

(b) Zorbax

淋洗液：(a) 0.25 mmol·L^{-1} $Cu(NO_3)_2$；

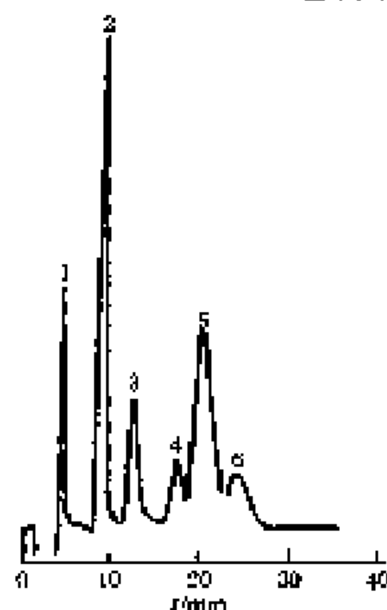
(b) 1.51 mmol·L^{-1} BTMA-PTS

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：(a) IPD (240 nm)；

(b) IPD (254 nm)

图 11-45　阴阳离子同时分离色谱图[15]



色谱峰：1—Cl^-；2—NO_3^-和Br^-；3—Na^+；4—K^+；5—Rb^+；6—Cs^+

色谱柱：Dionex HPLC-CS5

淋洗液：1.51 mmol·L^{-1} BTMA-PTS

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：IPD (254 nm)

图 11-46　阴阳离子同时分离和 IPD 检测色谱图[32]

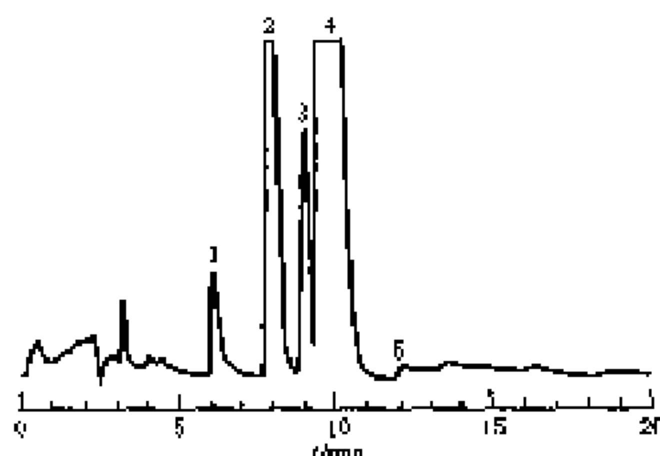


图 11-47　阴沟处理厂入口流中过渡金属阳离子分离色谱图[6]

[样品酸化为 HCl (pH2) 在上柱前体积比=1：10 稀释]

色谱峰：1—Fe^{3+} (0.29 mg·L^{-1})；2—Cu^{2+} (5.87 mg·L^{-1})；3—Ni^{2+} (0.12 mg·L^{-1})；4—Zn^{2+} (23.8 mg·L^{-1})；5—Cd^{2+} (0.12 mg·L^{-1})

色谱柱：IonPac CG5A+CS5A

柱　温：室温

流动相：7 mmol·L^{-1} PDCA+66 mmol·L^{-1} KOH+5.6 mmol·L^{-1} K_2SO_4+74 mmol·L^{-1} HCOOH (pH4.2)

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：可见吸收 (530 nm)

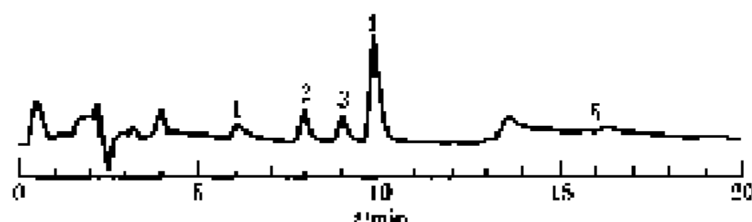


图 11-48　阴沟处理厂出口流中过渡金属阳离子分离色谱图[6]

[样品酸化为 HCl (pH2) 在上柱前体积比=1：10 稀释]

色谱峰：1—Fe^{3+} (35.4 mg·L^{-1})；2—Cu^{2+} (0.11 mg·L^{-1})；3—Ni^{2+} (35.6 mg·L^{-1})；4—Zn^{2+} (0.57 mg·L^{-1})；5—Fe^{2+}(tr)

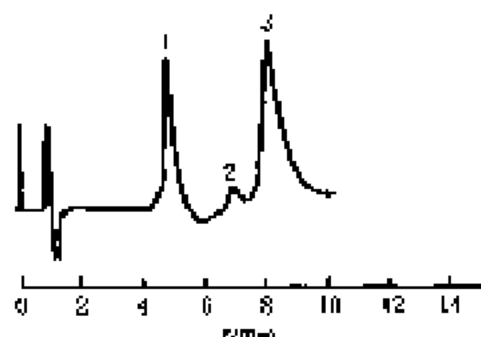
色谱柱：IonPac CG5A+CS5A

柱　温：室温

流动相：7 mmol·L^{-1} PDCA+66 mmol·L^{-1} KOH+5.6 mmol·L^{-1} K_2SO_4+74 mmol·L^{-1} HCOOH (pH4.2)

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：可见吸收 (530 nm)



色谱峰：1—$AuCl_4^-$ (4.0 μl·L^{-1})；2—$RhCl_6^{3-}$ (3.2 μl·L^{-1})；3—$PtCl_6^{2-}$ (0.5 μl·L^{-1})

色谱柱：填充 PS-DVB [illegible]，100 mm×4.6 mm

流动相：15 mmol·L^{-1} $NaClO_4$ (pH2.50)

检测器：UV (200 nm)

图 11-49　阴离子氯-金属络合物分离谱图[30]

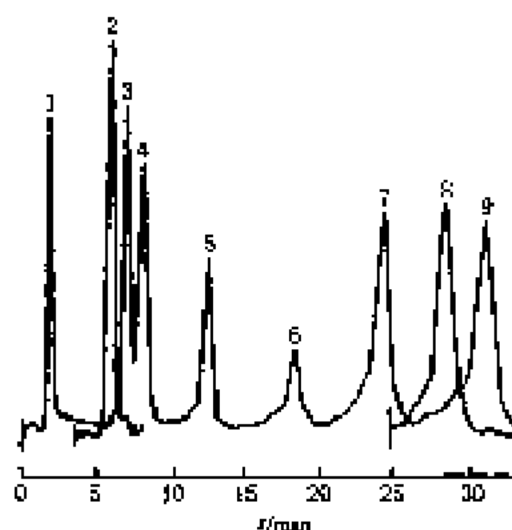


图 11-50　二价、三价金属离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Fe；2—Pb；3—Zn；4—Ni；5—Co；6—Cd；7—Ca；8—Mn；9—Mg

色谱柱：磺酸丙酰化 BioGel SEC 7 阳离子交换剂（Q=0.295 mmol·ml^{-1}床体积）

流动相：0.1 mol·L^{-1}酒石酸（用 NaOH 调节至 pH3.45）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV，柱后检测 Zn-EDTA-PAR

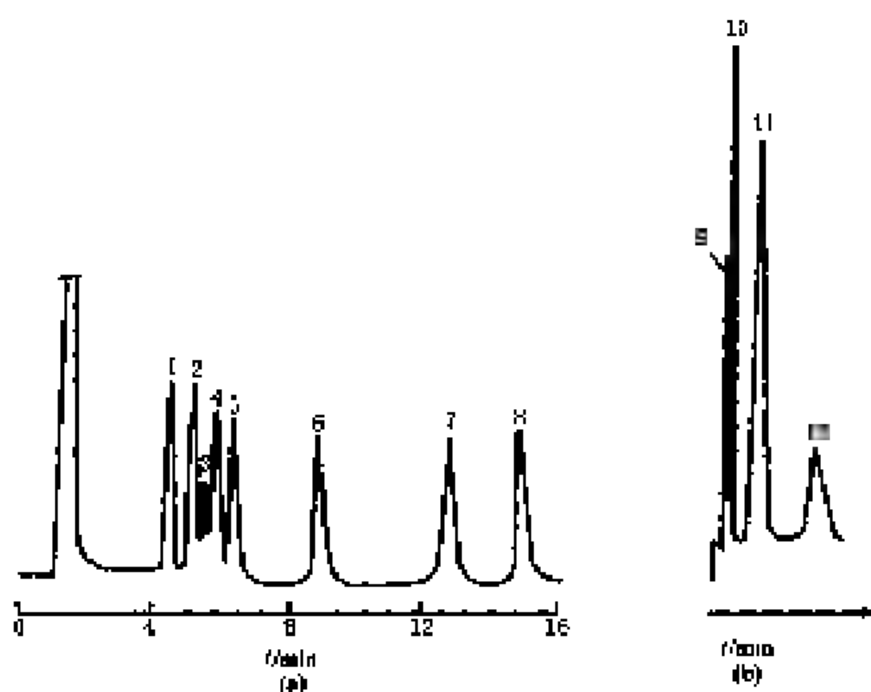


图 11-51　碱土金属、过渡金属和重金属分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Mg^{2+}；2—Ca^{2+} Sr^{2+}；3—Mn^{2+}；4—Be^{2+}；5—Ba^{2+}；6—Co^{2+}；7—Cd^{2+}；8—Zn^{2+}；9—Mn（Ⅱ）；10—Cd（Ⅱ）；11—Zn（Ⅱ）；12—Pb（Ⅱ）

色谱柱：(a) 填充与亚氨基二乙酸结合的硅胶；(b) 色谱柱，所限类硬泡的紫红色柱

流动相：(a) 7 mmol·L^{-1} HNO_3；(b) 1 mol·L^{-1} KNO_3（pH3.7）

流　速：(a) 2 ml·min^{-1}

检测器：(a) 间接电导；(b) 分光光度检测在柱后与 PAR 反应后检测（540 nm）

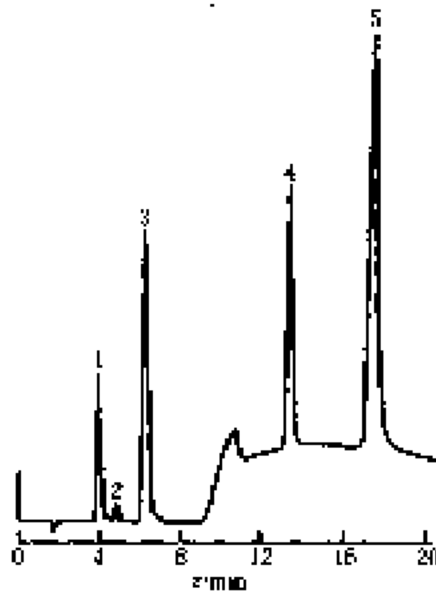


图 11-52 芹菜叶中阳离子分离色谱图[29]

色谱峰：1—Na^+；2—NH_4^+；3—K^+；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}

色谱柱：分析柱 IonPac® CS3 (Dionex) 聚苯乙烯-二乙烯基苯阳离子交换柱，250 mm×4 mm（内径），10 μm

保护柱：IonPac CG3 (Dionex) 聚苯乙烯-二乙烯基苯阳离子交换柱，50 mm×4 mm（内径），10 μm

流动相：A 12 mmol·L^{-1} HCl，0.50 mmol·L^{-1} 单盐酸二氨基丙酸

B 48 mmol·L^{-1} HCl，8.0 mmol·L^{-1} 单盐酸二氨基丙酸

梯度淋洗：$0\%B \xrightarrow{4\ min} 0\%B \xrightarrow{0.1\ min} 100\%B$

流　速：1.0 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：抑制电导



图 11-53 单价和二价离子分离色谱图[30]

色谱峰：1—Na^+；2—Cs^+；3—Pb^{2+}；4—Mg^{2+}；5—Sr^{2+}

色谱柱：填充 TSK IC Cation SW，50 mm×7.6 mm（内径）

柱　温：30 ℃

流动相：3.5 mmol·L^{-1} 1,2-乙二胺/10.0 mmol·L^{-1} 柠檬酸（pH=4.2 用 HCl 调节）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导



图 11-54 乙胺的单柱离子色谱分离色谱图[31]

色谱峰：1—单乙胺；2—二乙胺；3—三乙胺；4—Mg^{2+}；5—Ca^{2+}

色谱柱：Alltech Universal Cation，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1} HNO_3

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器



图 11-55 单价和二价阳离子的单柱离子色谱同时分离谱图（一）[30]

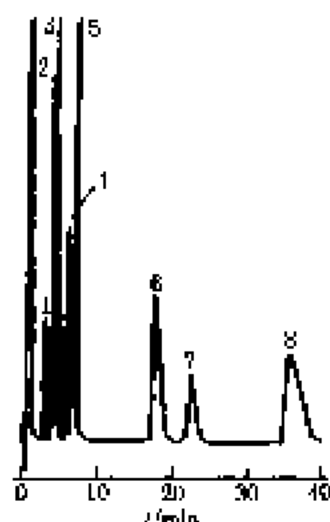
色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Mg^{2+}；6—Ca^{2+}

色谱柱：Alltech Universal Cation，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：4 mmol·L^{-1} HNO_3

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器



色谱峰：1—Li^{+}；2—Na^{+}；3—NH_4^{+}；4—K^{+}；5—Rb^{+}；6—Mg^{2+}；7—Ca^{2+}；8—Ba^{2+}

色谱柱：Alltech Universal Cation，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1} HNO_3

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器

图 11-56　单价和二价阳离子的单柱离子色谱同时分离谱图（二）[31]

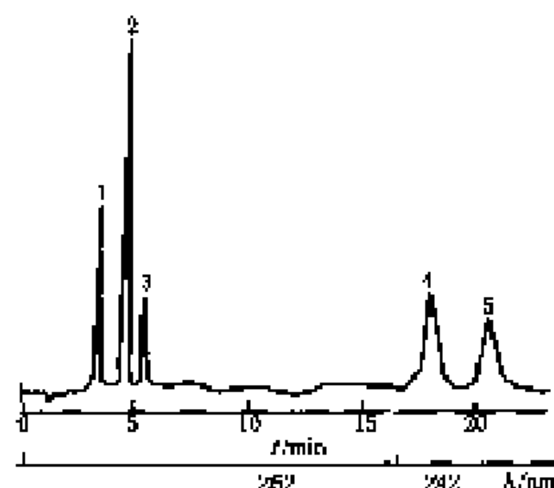


图 11-57　金属-EDTA 络合物分离色谱图（一）[24]

色谱峰：1—Bi(2μg·ml^{-1})；2—Fe(1μg·ml^{-1})；3—Co(1μg·ml^{-1})；4—Cu(5μg·ml^{-1})；5—Pb(5μg·ml^{-1})

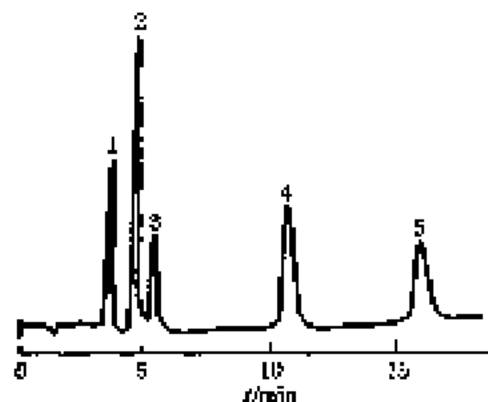
色谱柱：填充 10 μm Lichrospher 100 RP-18，250 mm×4 mm（内径）

流动相：缓冲液 A 是 30 mmol·L^{-1} HCOOH＋1.0 mmol·L^{-1} Na_2EDTA＋10 mmol·L^{-1} TBAOH＋NaOH（pH4.2），缓冲液 B 为缓冲液 A＋甲醇（95＋5 体积分数）

流　速：1.5 ml/min

进样量：200 μl

检测器：变波长 UV



色谱峰：1—Bi（4）；2—Fe（2）；3—Co（2）；4—Cu（10）；5—Pb（10）

色谱柱：填充 Lichrospher 100 RP-18，250 mm×4 mm（内径），10μm

流动相：缓冲液 A 是 50 mmol·L^{-1} HCOOH＋1.0 mmol·L^{-1} Na_2EDTA＋10 mmol·L^{-1} TBAOH＋NaOH（pH3.25）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

进样量：100 μl

图 11-58　金属-EDTA 络合物分离色谱图（二）[24]

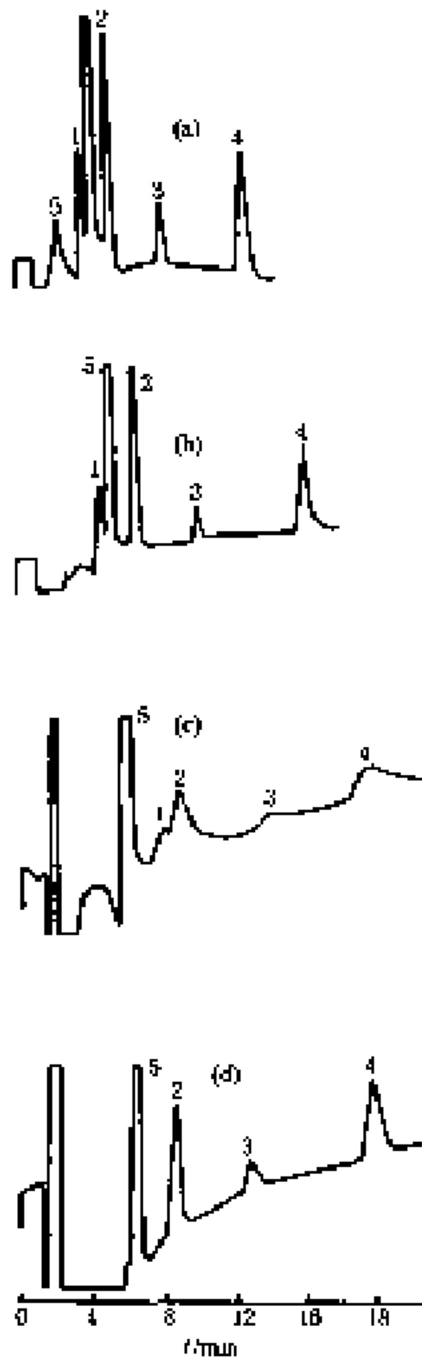


图 11-59 金属的 8-羟基喹啉络合物谱图[31]

色谱峰：1—Cu；2—Al；3—Fe；4—Mn；5—8-羟基喹啉

色谱柱：(a) μ Bondasphere (Waters)；
(b) Ultrasphere ODS (Beckman)；
(c) Lichrosorb RP-18 (Merck)；
(d) Tskgel ODS-80TM (Tosoh)

流动相：乙腈+乙酸盐缓冲液（体积比=2∶3，含有 8-羟基喹啉）

检测器：UV (390 nm)

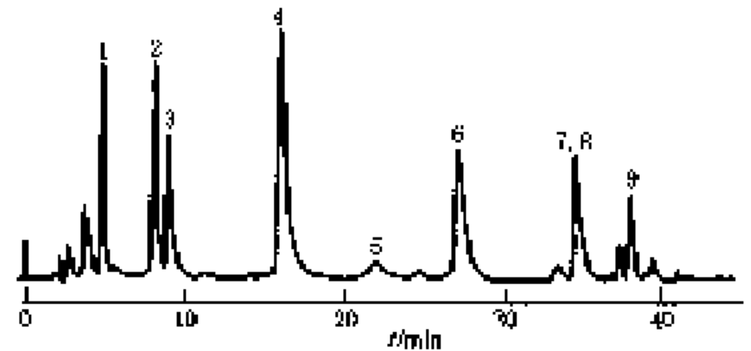


图 11-60 金属卟啉标准样反相分离谱图[32]

色谱峰：1—VOP3；2—VOP4；3—NIP3；4—NIP4；5—VOP1；6—VOP2；7—NIP1；8—NIP5；9—NIP2

色谱柱：Zorbax ODS

流动相：A 甲醇+水（体积比=1∶1）；B 四氢呋喃

梯度冲洗：5 min 冲洗到 45%B，20 min 线性梯度冲洗到 60%B，10 min 线性梯度冲洗到 65%B，10 min 线性梯度冲洗到 100%B

检测器：可见光（405 nm）

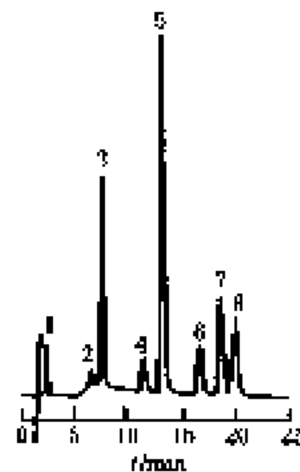


图 11-61 金属氰化络合物分离色谱图[33]

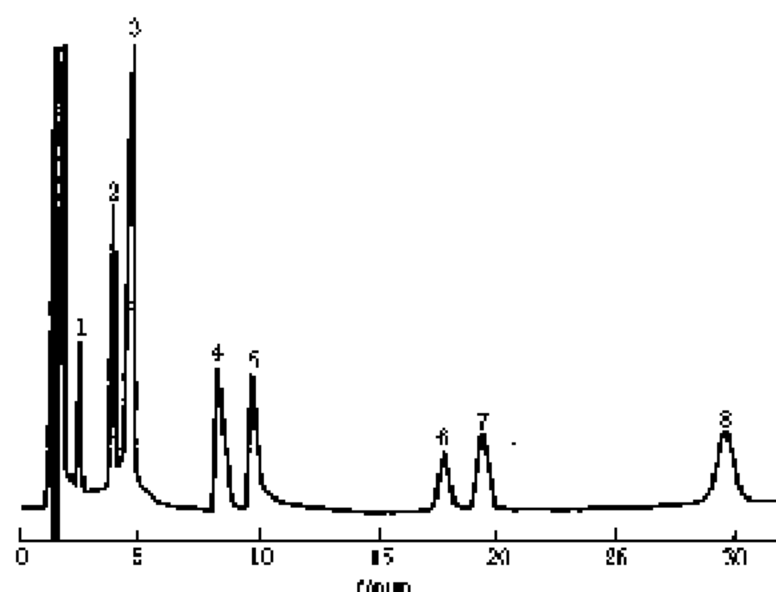
色谱峰：1—Ag(Ⅰ)；2—Au(Ⅰ)；3—Cu(Ⅰ)；4—Ni(Ⅱ)；5—Fe(Ⅱ)；6—Pd(Ⅱ)；7—Co(Ⅲ)；8—Pt(Ⅱ)（浓度为 10 mg·L^{-1}）

色谱柱：IonPac AS5 250 mm×4 mm 阴离子交换柱

流动相：0~18 min 内，30 mmol·L^{-1} $NaClO_4$ 线性升为 135 mmol·L^{-1} $NaClO_4$，18 min 后以 20 mmol·L^{-1} NaCN 和 20 mmol·L^{-1} NaOH 流动相

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV (215 nm)



色谱峰：1—Mo(Ⅵ)；2—Co(Ⅲ)；5—Fe(Ⅱ)、Cu(Ⅰ)；4—Cr(Ⅲ)；5—Ni(Ⅱ)；6—Pd(Ⅱ)；7—Pt(Ⅱ)；8—Au(Ⅰ)

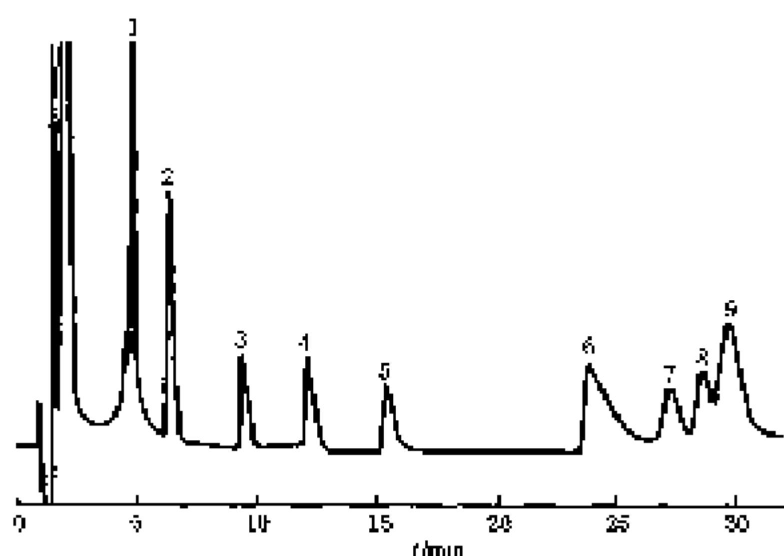
色谱柱：NOVa-Pak C_{18}反相柱，150 mm×3.9 mm

预　柱：NOVa-Pak C_{18}，5 mm×3.9 mm

流动相：5.42 mmol·L^{-1} $NaClO_4$

检测器：UV（215 nm）

图 11-62　金属-氰化物络合物分离色谱图（一）



色谱峰：1—Cu(Ⅰ)；2—Mo(Ⅵ)；3—Co(Ⅲ)；4—Fe(Ⅱ)；5—Ni(Ⅱ)；6—Cr(Ⅲ)；7—Pd(Ⅱ)；8—Pt(Ⅱ)；9—Au(Ⅰ)

色谱柱：NOVa-Pak C_{18}反相柱，150 mm×3.9 mm

预　柱：NOVa-Pak C_{18}，5 mm×3.9 mm

流动相：0.84 mmol·L^{-1} $NaClO_4$

检测器：UV（215 nm）

图 11-63　金属-氰化物络合物分离色谱图（二）

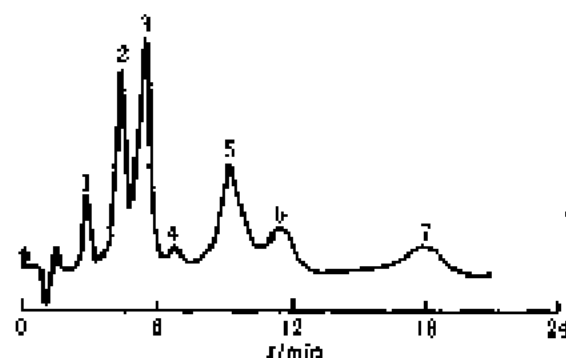


图 11-64　标准金属离子混合样色谱图

色谱峰：1—Ba^{2+}；2—Mg^{2+}；3—Zn^{2+}；4—Fe^{3+}；5—Co^{2+}；6—Cd^{2+}；7—Pb^{2+}

色谱柱：PEEK，50 mm×4.5 mm（内径）

柱　温：47℃

流动相：2.0×10^{-3} mol·L^{-1} HNO_3

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：UV（495 nm）

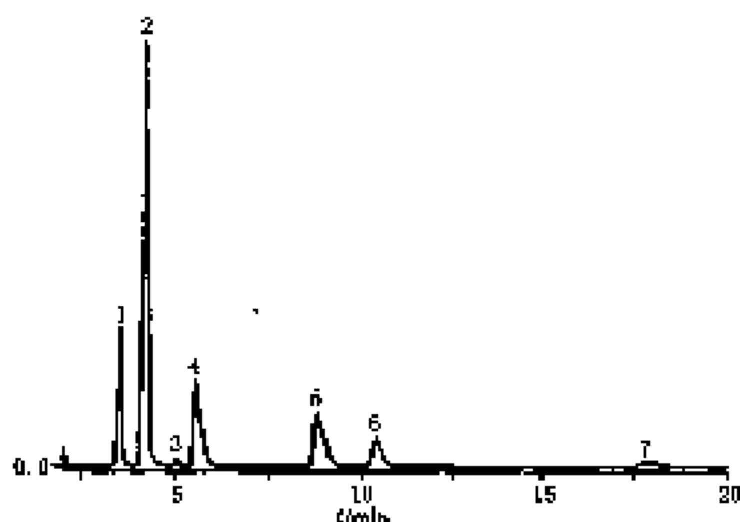


图 11-65　标准硫氰化物和6种金属硫氰化物络合物色谱图[36]

色谱峰：1—SCN^-；2—Cu(Ⅰ)；3—Ag；4—Fe(Ⅲ)；5—Co(Ⅱ)；6—Ni(Ⅱ)；7—Au(Ⅰ)

色谱柱：NoVa-Pak C_{18}，15 cm

流动相：25%乙腈+5 mmol·L^{-1}离子对PICA，75μmol·L^{-1} NaCl (pH8.0)

检测器：UV (214 nm)

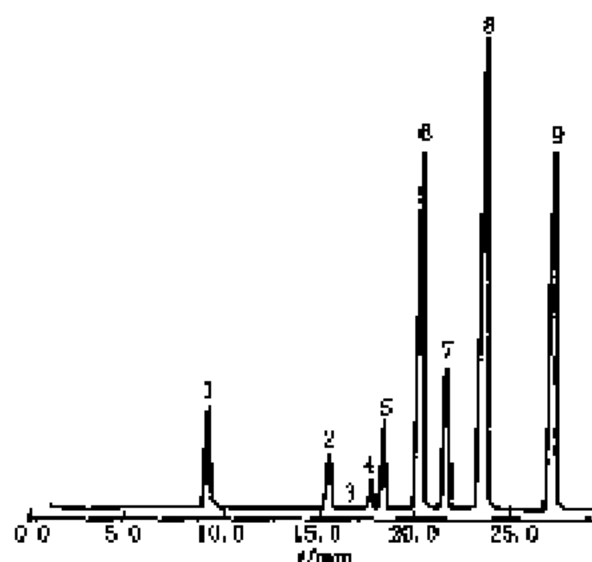


图 11-66　独居石砂中轻稀土元素分离谱图[37]

色谱峰：1—钍；2—镧和铈；3—铽；4—铕和钆；5—钐；6—钕；7—镨；8—铈；9—镧

色谱柱：Hitachi ODS NO 3056，4 mm×150 mm，5 μm

流动相：乳酸 0.05 mol·L^{-1} 至 0.5 mol·L^{-1} (30 min) (pH3.5)，0.01 mol·L^{-1} 1-辛磺酸

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：柱后与Arsenazo Ⅲ反应检测

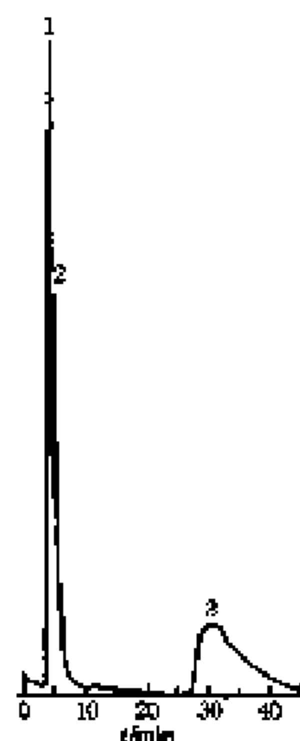


图 11-67　重金属离子分析色谱图[38]

色谱峰：1—Zn；2—Cd；3—Pd

色谱柱：填充PEEK，150 mm×4.6 mm (内径)

流动相：0.6 mol·L^{-1} KNO_3+0.05 mol·L^{-1}乳酸，用NH_3调节至pH4.4

检测器：PAR (490nm)

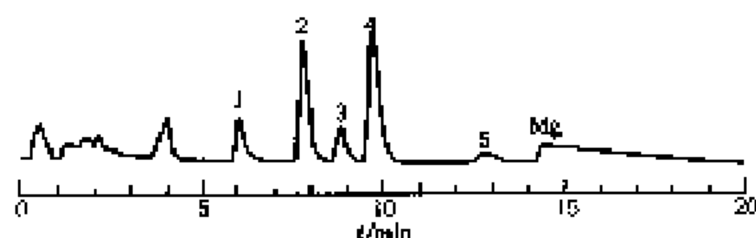


图 11-68 莱茵河水色谱图[illegible]

[样品稀释为 HCl (pH2) 在上柱前体积比=1:10 稀释]

色谱峰：1—Fe^{3+} (0.11 mg·L^{-1})；2—Cu^{2+} (0.64 mg·L^{-1})；3—Ni^{2+} (56.8 mg·L^{-1})；4—Zn^{2+} (0.78 mg·L^{-1})；5—Mn^{2+} (22.9 mg·L^{-1})

色谱柱：IonPac CG5A+CS5A

柱　温：室温

淋洗相：7 mmol·L^{-1} PDCA+66 mmol·L^{-1} KOH+5.6 mmol·L^{-1} K_2SO_4+74 mmol·L^{-1} HCOOH (pH4.2)

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：可见吸收 (530 nm)

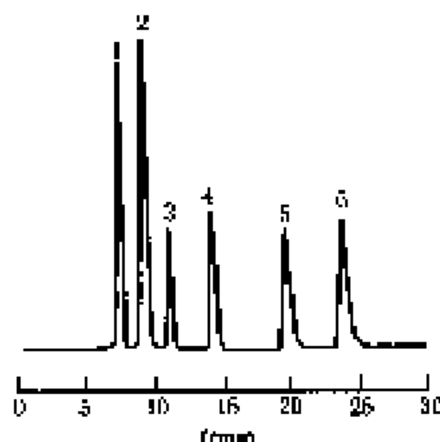


图 11-69 通过柱切换分离无机阳离子的谱图[illegible]

色谱峰：1—Mg^{2+}；2—Ca^{2+}；3—Li^{+}；4—Na^{+}；5—NH_4^{+}；6—K^{+}

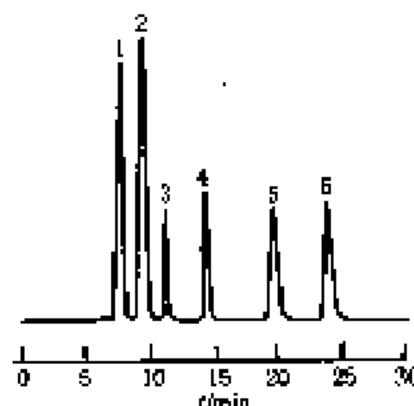
色谱条件：(1) 250 mm×2 mm IonPac CS12A；(2) 250 mm×2 mm IonPac CS10，6 min 进样柱切换

柱　温：室温

流动相：24 mmol·L^{-1} 甲磺酸

流　速：0.25 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导



色谱峰：1—Mg^{2+}；2—Ca^{2+}；3—Li^{+}；4—Na^{+}；5—NH_4^{+}；6—K^{+}

色谱柱：IonPac CS 12A 和 CS10

流动相：24 mmol·L^{-1} 甲磺酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器

图 11-70 通过柱切换分离 6 种普通阳离子的色谱图[illegible]

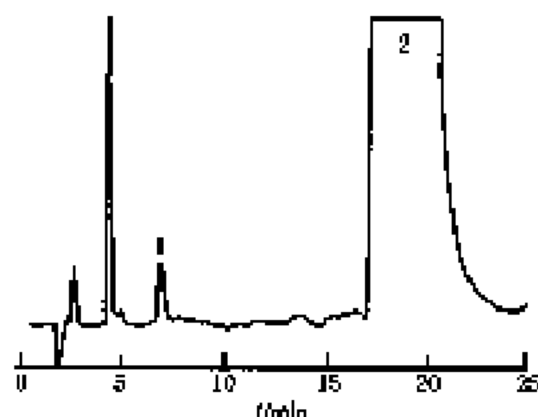


图 11-71　高浓度 K^+ 与低浓度 NH_4^+ 分离色谱图[11]

色谱峰：1—NH_4^+，2—K^+

色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

柱　温：40°C

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4+9%乙腈

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器

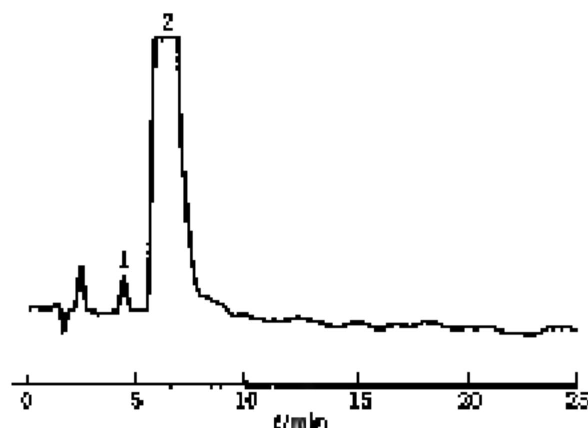


图 11-72　高浓度乙醇胺与低浓度 Na^+ 分离色谱图[34]

色谱峰：1—Na^+，2—乙醇胺

色谱柱：IonPac CG15 和 CS15

柱　温：40°C

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4+9%乙腈

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器

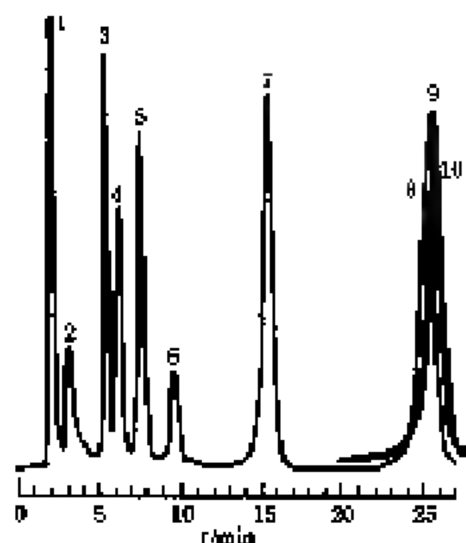


图 11-73　高能力磺酸丙酯化 BioGel SEC 7 阳离子交换剂对二价和三价阳离子分离色谱图[28]

色谱峰：1—Fe；2—Cu；3—Zn；4—Ni；5—Pb；6—Co；7—Cd；8—Mn；9—Ca；10—Mg

色谱柱：磺酸丙酯化 BioGel SEC 7 阳离子交换剂

流动相：0.175 mol·L^{-1} 酒石酸（用 NaOH 调节 pH 至 3.42）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV，柱后检测 Zn-EDTA-PAR

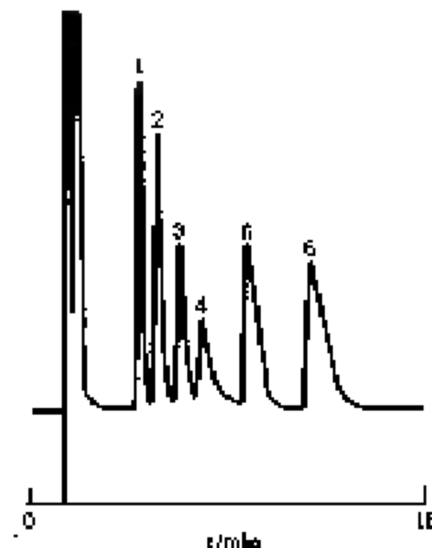


图 11-74　普通碱金属和碱土金属阳离子色谱图（一）[13]

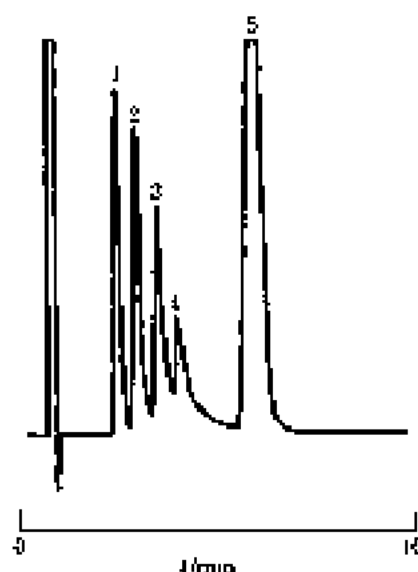
色谱峰：1—Li^+，2—Na^+，3—NH_4^+，4—K^+，5—Ca^{2+}，6—Mg^{2+}

色谱柱：Develosil 30-5，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1} HNO_3-0.5 mmol·L^{-1} 吡啶-2,6-二羧酸

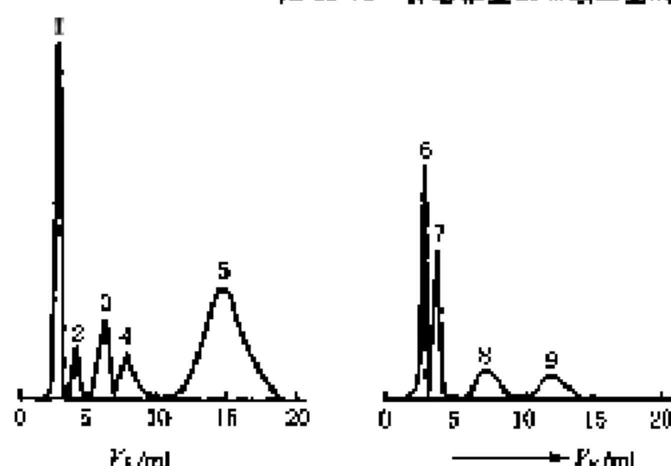
流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：电导检测器



色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Mg^{2+} 和 Ca^{2+}
色谱柱：DeveLosil 30-5，150 mm×4.6 mm（内径）
流动相：0.5 mmol·L^{-1} $CuSO_4$
流　速：1 ml·min^{-1}
检测器：间接紫外型（810 nm）

图 11-75　普通碱金属和碱土金属阳离子色谱图（二）[4]



色谱峰：1—H_2O；2—$(C_4H_9)_3NH^+Cl^-$；3—$(CH_3)_2NH_2^+Cl^-$；4—$(CH_3)_4N^+Cl^-$；5—$CH_3NH_3^+Cl^-$；6—H_2O 和 $(C_2H_5)_2NH_2^+Cl^-$；7—$(C_2H_5)_3NH^+Cl^-$；8—$(C_2H_5)_4N^+Cl^-$；9—$C_2H_5NH_3^+Cl^-$
色谱柱：二苯基-18-冠-6 聚合物
流动相：甲醇
[illegible]

图 11-76　氯化烷基胺分离色谱图[9]

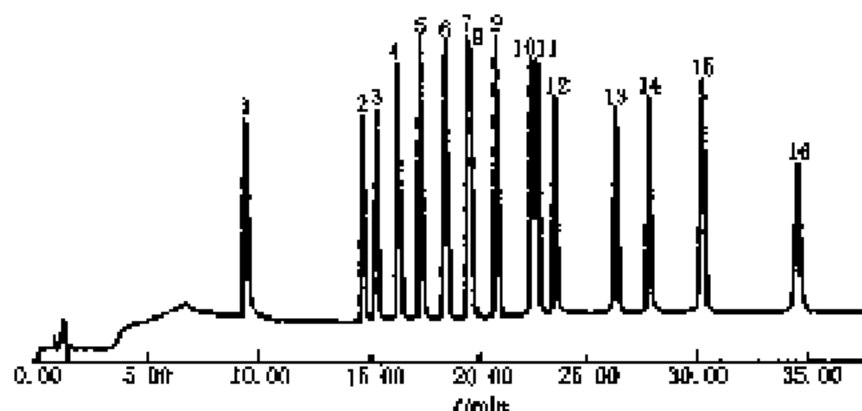


图 11-77　稀土元素分离色谱图（一）[9]

色谱峰：1—钪；2—镥；3—镱；4—铥；5—铒；6—钬；7—镝；8—钇；9—铽；10—钆；11—铕；12—钐；13—钕；14—镨；15—铈；16—镧
色谱柱：Hitachi ODS，NO. 3056，4 mm×150 mm，5 μm
流动相：乳酸（0.05～0.5）mol·L^{-1}（pH3.5），超过 30 min 梯度洗脱
进样量：10 μl
检测器：色谱柱后与 Arsenazo Ⅲ 反应检测

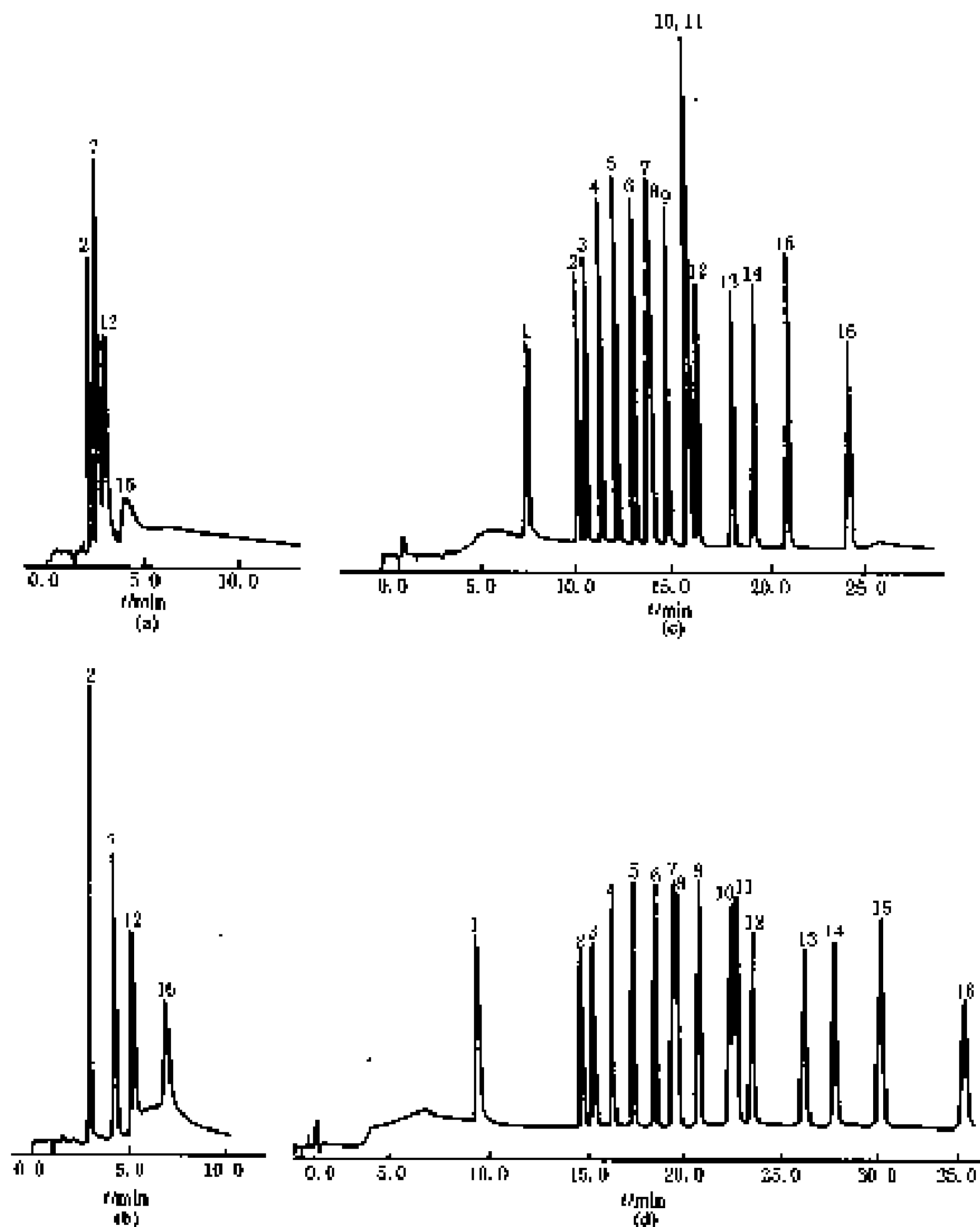


图 11-78 稀土元素分离色谱图（二）[91]

色谱峰 1—Sc；2—Lu；3—Yb；4—Tm；5—Er；6—Ho；7—Dy；8—Y；9—Tb；10—Gd；11—Eu；12—Sm；13—Nd；14—Pr；15—Ce；16—La

色谱柱：Hitachi ODS No 3056，4 mm×150 mm，5 μm

流动相 (a) 甲磺酸；(b) p-甲苯磺酸；(c) 1-辛烷磺酸；(d) 1-十二烷基磺酸，预过 30 min，用乳酸 [(0.05～0.5) mol·L^{-1}，pH3.5]

检测器：UV-Vis (650 nm)

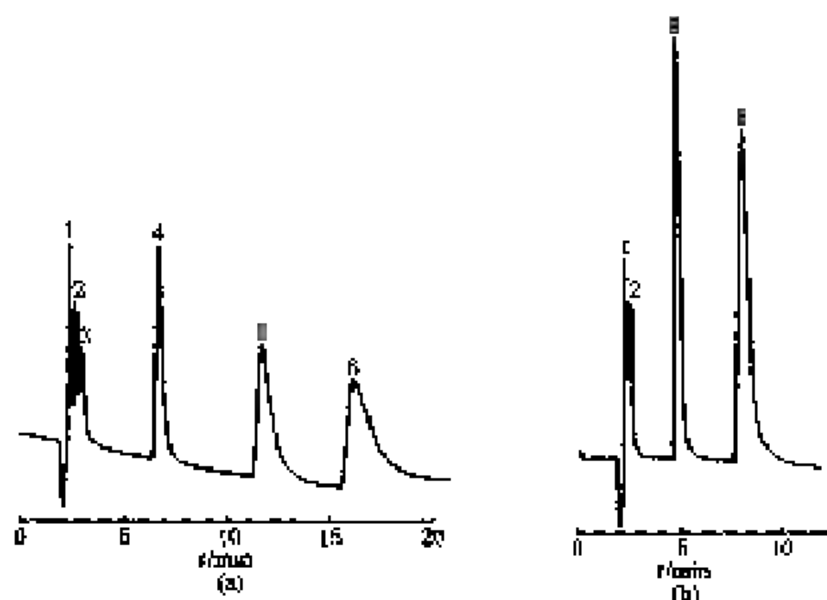


图 11-79　等度分离单价、二价无机阳离子色谱图[42]

色谱峰：1—Na^{+} (2mg·L^{-1})；2—K^{+} (2mg·L^{-1})；3—Cs^{+} (2mg·L^{-1})；4—Mg^{2+} (4mg·L^{-1})；5—Ca^{2+} (4mg·L^{-1})；6—Sr^{2+} (12mg·L^{-1})

保护柱：CG3 阳离子交换保护柱，50 mm×4 mm，Ionpac CS3

分析柱：250 mm×4 mm

淋洗液：(a) 4.5 mmol·L^{-1} 组氨酸+27.5 mmol·L^{-1} HCl；(b) 6.0 mmol·L^{-1} 组氨酸+27.5 mmol·L^{-1} HCl

检测器：抑制电导

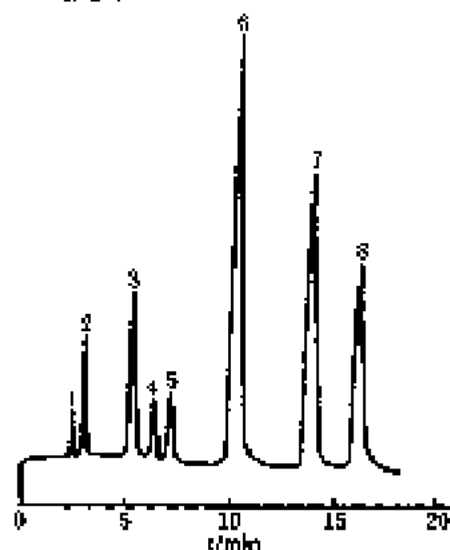


图 11-80　碱金属、碱土金属和过渡金属离子混合物分离色谱图[47]

色谱峰：1—Li；2—Na；3—Mg；4—Ca；5—Ba；6—Co；7—Cd；8—Zn

色谱柱：填充亚氨基二乙酸的硅胶体，250 mm×4.6 mm（内径）

淋洗液：10 mmol·L^{-1} 对甲苯磺酸

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导

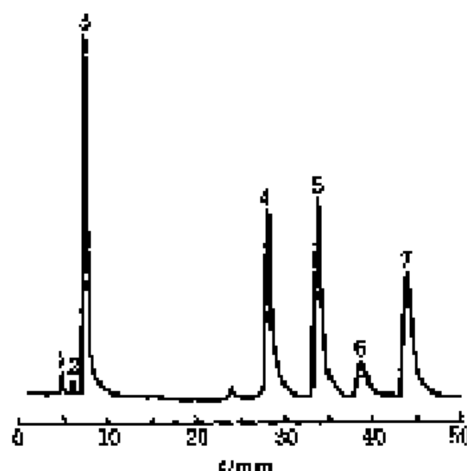


图 11-81　碱土金属和过渡金属离子混合物分离色谱图[45]

色谱峰：1—Mg^{2+} (3μg·ml^{-1})；2—Ca^{2+} (3μg·ml^{-1})；3—Mn^{2+} (4μg·ml^{-1})；4—Cd^{2+} (4μg·ml^{-1})；5—Co^{2+} (4μg·ml^{-1})；6—Zn^{2+} (4μg·ml^{-1})；7—Ni^{2+} (13μg·ml^{-1})；8—Cu^{2+} (4μg·ml^{-1})

色谱柱：填充亚氨基二乙酸的硅胶体，250 mm×4mm（内径）

流动相：三步梯度冲洗 0～10 min 用 0.5 mol·L^{-1} KCl $+5\times10^{-3}$ mol·L^{-1} HNO_3 冲洗；10～30 min 0.08 mol·L^{-1} 酒石酸冲洗；30～50 min 0.01 mol·L^{-1} 吡啶甲酸冲洗

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：UV (490 nm)

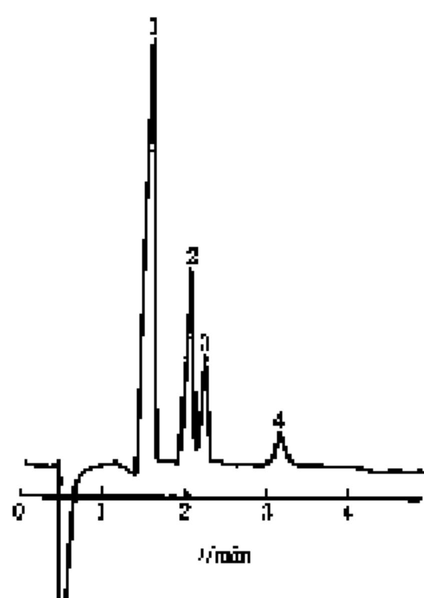


图 11-82 碱土金属离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Mg^{2+}；2—Ca^{2+}；3—Sr^{2+}；4—Ba^{2+}

色谱柱：PRP-X200 (Hamilton) 磺酸化聚苯乙烯-二乙烯基苯，25.0 cm×4.1 mm（内径），10 μm

流动相：0.0015 mol·L^{-1}硝酸乙二胺

流　速：2ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：电导

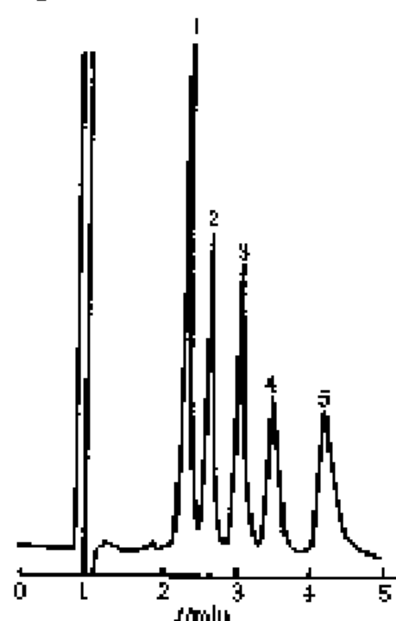


图 11-85 碱金属阳离子色谱图[illegible]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Cs^+

色谱柱：PRP-X200 (Hamilton) 磺化聚苯乙烯-乙烯基苯，15.0 cm×4.1 mm（内径），10 μm

流动相：水－甲醇（70＋30），0.004 mol·L^{-1}硝酸，等度淋洗

流　速：2 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：电导



图 11-83 碱金属、碱土金属和过渡金属离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Na^+(5mg·L^{-1})；2—K^+(50mg·L^{-1})；3—Cu^{2+}(10mg·L^{-1})；4—Ni^{2+}(10mg·L^{-1})；5—Co^{2+}(10mg·L^{-1})；6—Zn^{2+}(10mg·L^{-1})；7—Fe^{2+}(10mg·L^{-1})；8—Mn^{2+}(20mg·L^{-1})；9—Cd^{2+}(30mg·L^{-1})；10—Ca^{2+}(15mg·L^{-1})

色谱柱：填充 TSK IC Cation SW，50 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：30℃

流动相：3.5 mmol·L^{-1} 1,2-乙二胺/10.0 mmol·L^{-1}柠檬酸（pH=2.8 用HCl调节）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导

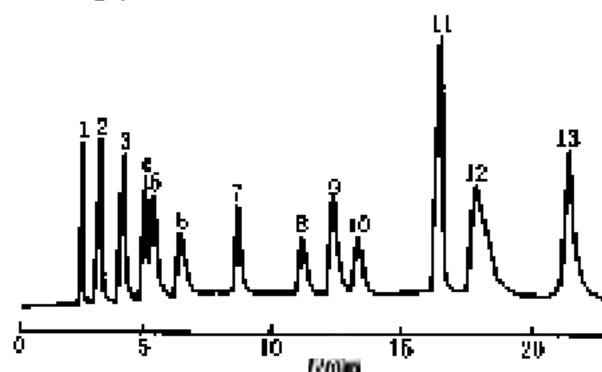


图 11-84 碱金属、碱土金属和有机胺分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—$[CH_3NH_3]^+$；5—K^+；6—$[(CH_3)_2NH_2]^+$；7—$[(CH_3CH_2)_2NH_2]^+$；8—$[(CH_3CH_2)_3NH]^+$；9—哌啶离子；10—$[(CH_3CH_2)_4N]^+$；11—环己铵阳离子；12—Mg^{2+}；13—Ca^{2+}

色谱柱：250 mm×4 mm阴离子交换柱，填充Dionex IonPac CS-12

流动相：HCl，2,3-二氨基丙酸和乙腈

流　速：1 ml·min^{-1}

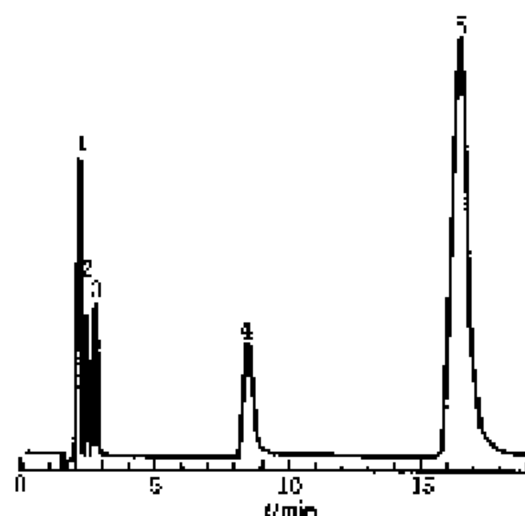


图 11-86 碱金属和碱土金属同时分离色谱图(一)[30]

色谱峰:1—Na^+;2—NH_4^+;3—K^+;4—Mg^{2+};5—Ca^{2+}

色谱柱:IonPac CS10

流动相:0.04 $mol \cdot L^{-1}$ HCl+0.004 $mol \cdot L^{-1}$ 2,3-二氨基丙酸

流　速:1 $ml \cdot min^{-1}$

检测器:电导检测

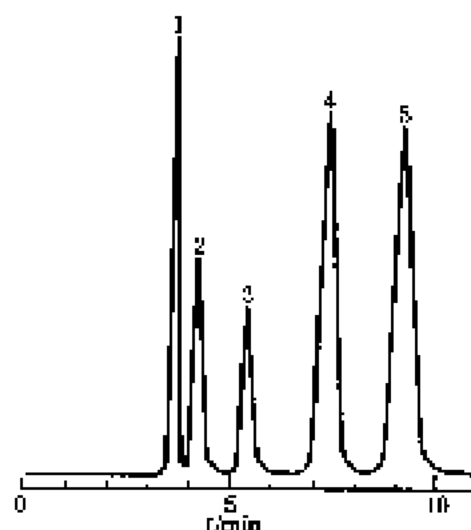


图 11-87 碱金属和碱土金属同时分离色谱图(二)[10]

色谱峰:1—Na^+;2—NH_4^+;3—K^+;4—Mg^{2+};5—Ca^{2+}

色谱柱:IonPac CS12

流动相:0.02 $mol \cdot L^{-1}$ 甲基磺酸

流　速:1 $ml \cdot min^{-1}$

检测器:电导检测

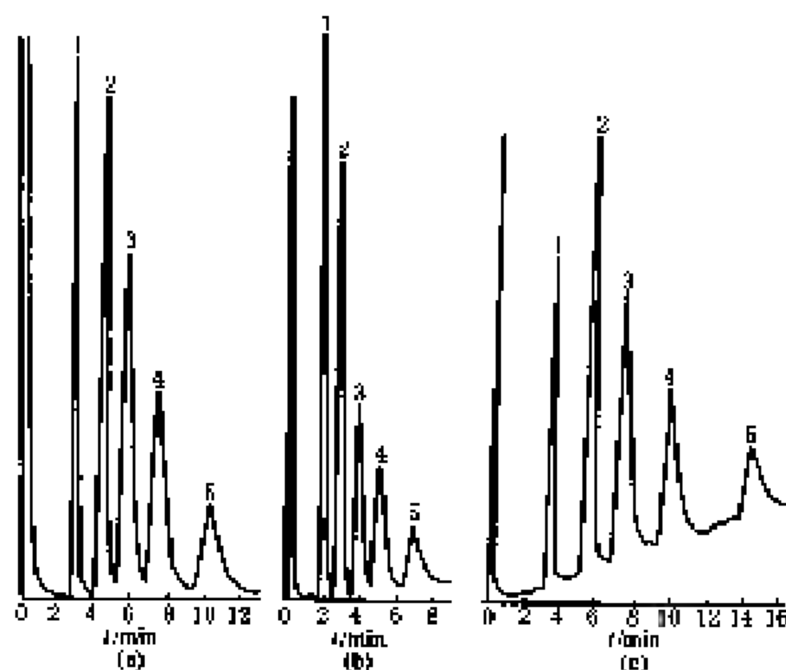


图 11-89 碱金属离子色谱图[16]

色谱峰:1—Na^+;2—NH_4^+;3—K^+;4—Rb^+;5—Cs^+

色谱柱:硅胶阳离子交换柱,50×4.6 mm(内径)

泵:Pekin Elmer LC-10

进样器:Model 7125

流动相:(a) 二氯乙酸;(b) 氨基磺酸;(c) 草酸

流　速:3 $ml \cdot min^{-1}$

检测器:电导,Pekin Elmer LC-21

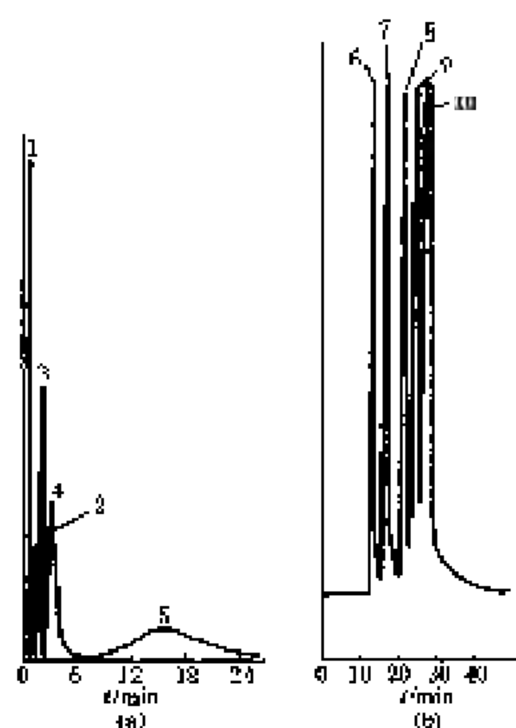


图 11-89 碱金属氯化物分离色谱图[33]

色谱峰：1—LiCl；2—H_2O；3—NaCl；4—CsCl；5—KCl；6—LiCl；7—NaCl；8—RbCl；9—CsCl；10—KCl

色谱柱：(a) 苯基-15-冠-5 共价结合到 Si 颗粒上；(b) silica-based 苯基-18-冠-6 树脂

流动相：水

流　速：0.16～0.26 ml·min⁻¹

检测器：电导

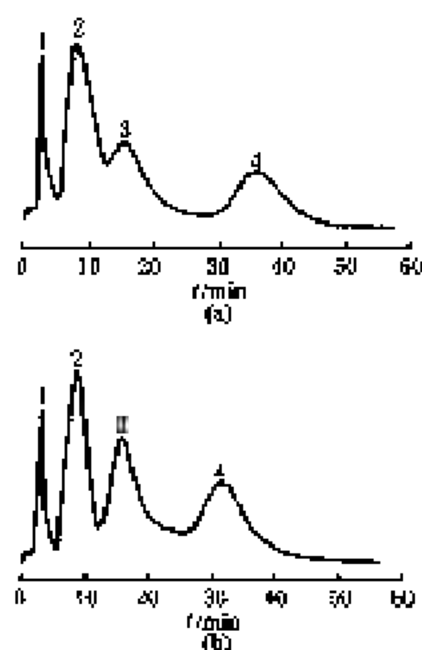


图 11-90 镧系元素分离色谱图[5]

色谱峰：1—Er(Ⅲ)；2—Eu(Ⅲ)；3—Sm(Ⅲ)；4—La(Ⅲ)

色谱柱：35 cm×3 mm（内径），填充 N-甲基 P13

流动相：(a) 草酸（4 mmol·L⁻¹，pH4.6）等度淋洗；

(b) 草酸

线性梯度淋洗：

时间/min	0	3	5	10	15
浓度/mmol·L⁻¹	3	4	3	5	5

检测器：紫外

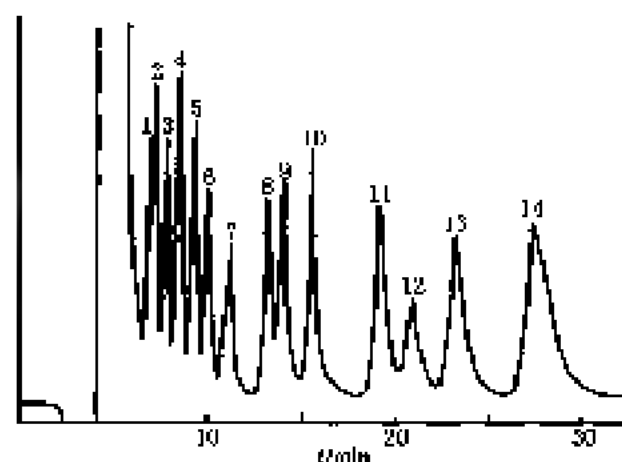


图 11-91 镧系元素阳离子分离色谱图[11]

色谱峰：1—Lu^{3+}；2—Yb^{3+}；3—Tm^{3+}；4—Er^{3+}；5—Ho^{3+}；6—Dy^{3+}；7—Tb^{3+}；8—Gd^{3+}；9—Eu^{3+}；10—Sm^{3+}；11—Nd^{3+}；12—Pr^{3+}；13—Ce^{3+}；14—La^{3+}

色谱柱：GYQG-SiO_2 microparticulates silica，5 μm

柱　温：30℃

流动相：4 mmol·L⁻¹ 1，2-乙二胺＋6 mmol·L⁻¹ α-羟基异丁酸，pH5.76

流　速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：电导

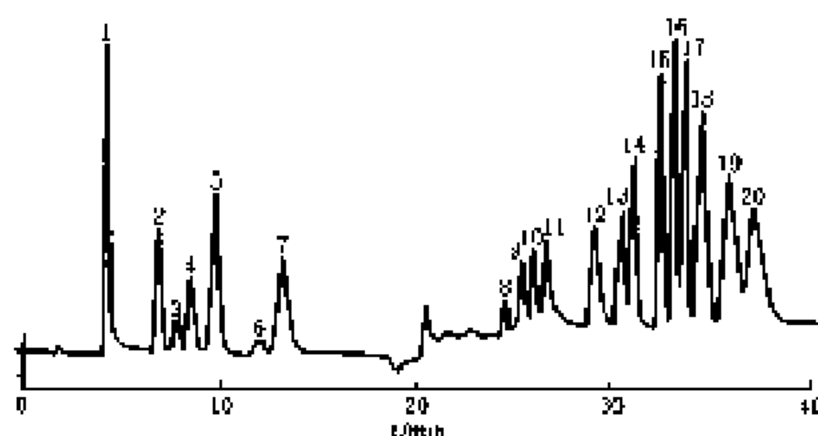


图11-92　镧系元素和过渡金属离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—Fe^{3+}；2—Cu^{2+}；3—Ni^{2+}；4—Zn^{2+}；5—Co^{2+}；6—Mg^{2+}；7—Fe^{2+}；8—La^{3+}；9—Ce^{3+}；10—Pr^{3+}；11—Nd^{3+}；12—Sm^{3+}；13—Eu^{3+}；14—Gd^{3+}；15—Tb^{3+}；16—Dy^{3+}；17—Ho^{3+}；18—Er^{3+}；19—Tm^{3+}；20—Yb^{3+}

分析柱：IonPac CS_5 (Dionex) 磺酸苯乙烯-二乙烯基苯阴/阳离子交换器，250 mm×4.0 mm（内径），15 μm

保护柱：IonPac® CG_5 (Dionex) 磺酸苯乙烯-二乙烯基苯阴/阳离子交换器，50 mm×4.0 mm（内径），15 μm

淋洗液：A 去离子水

B 6 mmol·L^{-1}吡啶-2，6-二羧酸 50 mmol·L^{-1}乙酸钠

C 100 mmol·L^{-1}草酸，190 mmol·L^{-1} LiOH

D 100 mmol·L^{-1}甘醇酸，190 mmol·L^{-1} LiOH

梯度冲洗：

时间/min	φ/%			
	A	B	C	D
0.0	0	100	0	0
12.0	0	100	0	0
12.1	100	0	0	0
17.0	100	0	0	0
17.1	40	0	60	0
21.0	40	0	60	0
21.1	20	0	80	0
30.0	51	0	26	23

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV (520nm)

第二节　阴离子色谱图

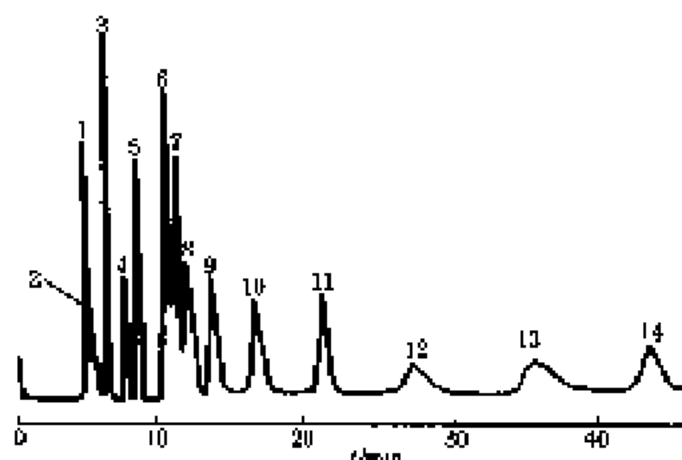


图11-93　14种阴离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-；2—乙酸根；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—SO_4^{2-}；7—NO_3^-；8—草酸根；9—CrO_4^{2-}；10—邻苯二甲酸根；11—I^-；12—PO_4^{3-}；13—柠檬酸根；14—SCN^-

色谱柱：16-[illegible]-6

流动相：50 mmol·L^{-1}水相KOH＋乙腈（80＋20）

检测器：电导检测

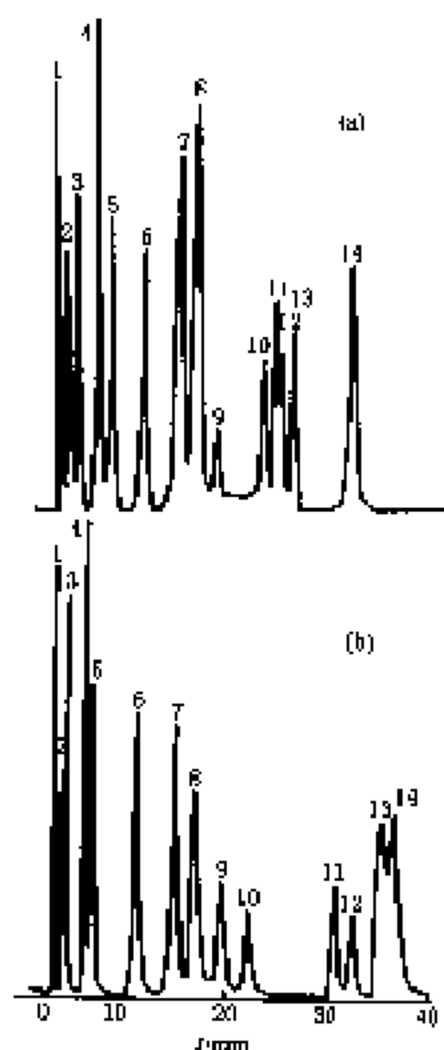


图 11-94　14 种阴离子容量梯度分离色谱图（一）[40]

色谱峰：1—F^-；2—乙酸根；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—NO_3^-；7—SO_4^{2-}；8—草酸根；9—CrO_4^{2-}；10—I^-；11—PO_4^{3-}；12—邻苯二甲酸根；13—柠檬酸根；14—SCN^-

色谱柱：

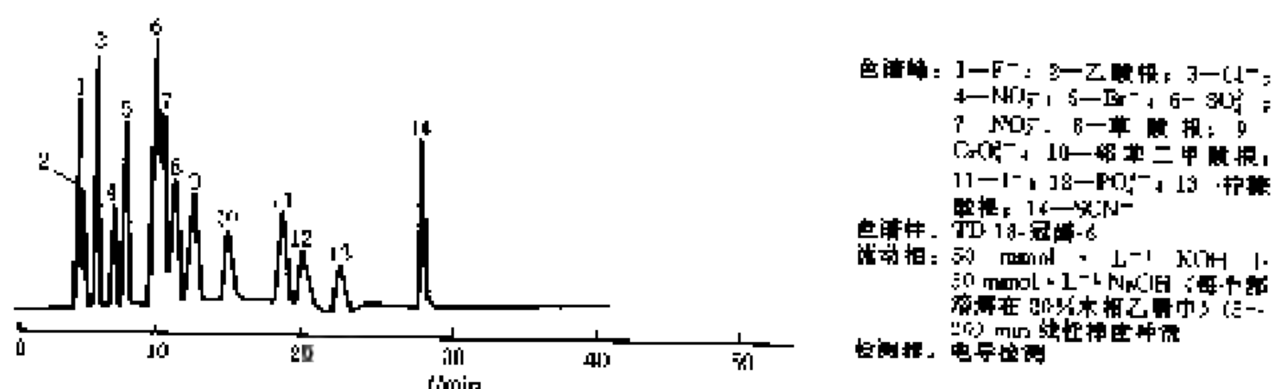
(a) D-2.2.2（结构式为 ）；

(b) D-2.2.1（结构式为 ）

流动相：(a) 30 $mmol \cdot L^{-1}$ NaOH-30 $mmol \cdot L^{-1}$ LiOH 线性梯度冲洗 20 min；

(b) 30 $mmol \cdot L^{-1}$ KOH-30 $mmol \cdot L^{-1}$ LiOH 线性梯度冲洗 20 min

检测器：电导检测



色谱峰：1—F^-；2—乙酸根；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—SO_4^{2-}；7—NO_3^-；8—草酸根；9—CrO_4^{2-}；10—邻苯二甲酸根；11—I^-；12—PO_4^{3-}；13—柠檬酸根；14—SCN^-

色谱柱：TD 18-冠醚-6

流动相：50 mmol·L^{-1} KOH 和 50 mmol·L^{-1} NaOH（每个都溶解在30%水和乙腈中）(5～20) min 线性梯度淋洗

检测器：电导检测

图 11-95　14种阴离子容量梯度分离色谱图（二）[46]

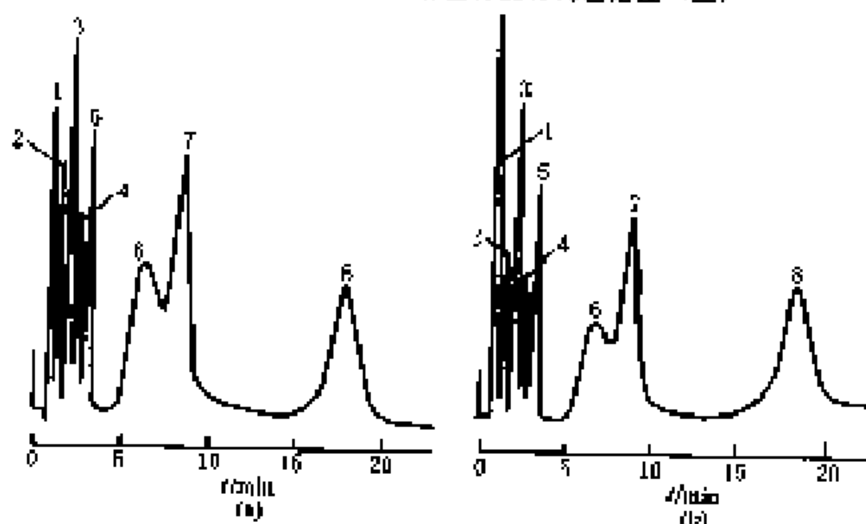


图 11-96　8种阴离子在水中（a）和20000 mg·L^{-1}硫酸盐中（b）分离色谱图[49]

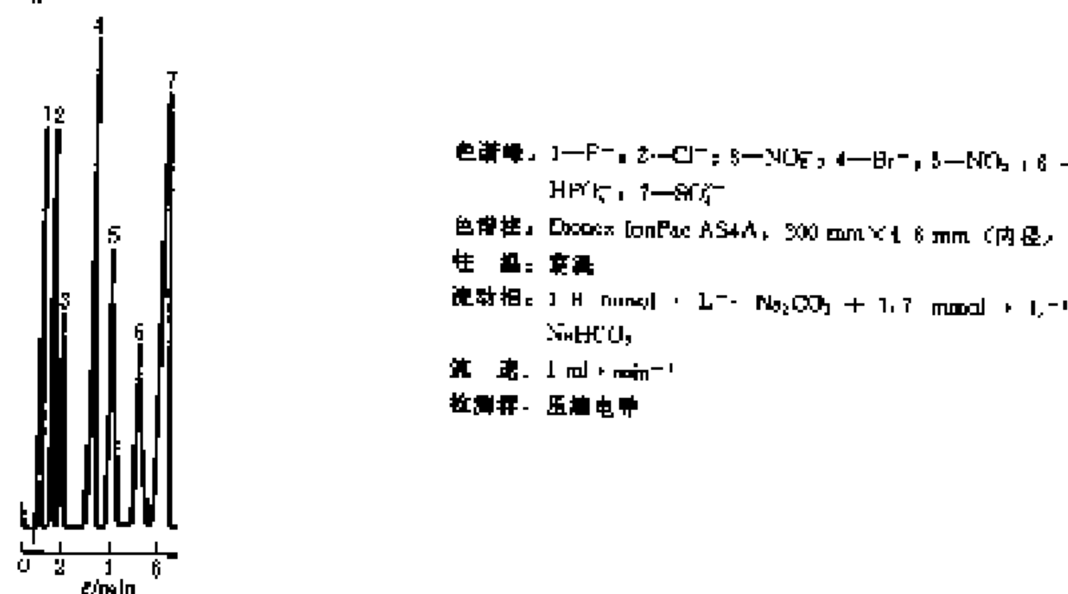
色谱峰：1—IO_3^-（25 mg·L^{-1}）；2—BrO_3^-（50 mg·L^{-1}）；3—NO_2^-（5 mg·L^{-1}）；4—Br^-（25 mg·L^{-1}）；5—NO_3^-（10 mg·L^{-1}）；6—VO_3（50 mg·L^{-1}）；7—I^-（10 mg·L^{-1}）；8—SCN^-（50 mg·L^{-1}）

色谱柱：Waters IC Pak，50 mm×4.6 mm（内径）

流动相：10 mmol·L^{-1} Na_2SO_4 内含 5 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH 5.5）

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：UV（210 nm）



色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—HPO_4^{2-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Dionex IonPac AS4A，300 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3 + 1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：压抑电导

图 11-97　7种阴离子分离色谱图[illegible]

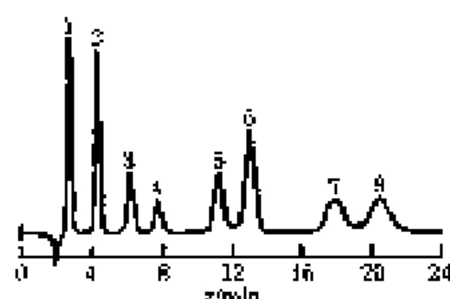


图 11-98　8 种阴离子分离色谱图[38]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—SeO_3^{2-}；6—SeO_4^{2-}；7—WO_4^{2-}；8—MoO_4^{2-}

色谱柱：Allsep Anion，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$＋1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：电导检测



图 11-100　4 种阴离子分离色谱图[39]

色谱峰：1—F^-；2—S^{2-}；3—Cl^-；4—CN^-

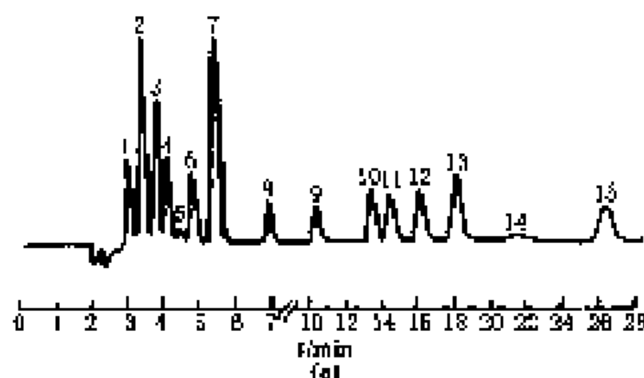
色谱柱：PRP-X100（Hamilton）聚甲基化聚苯乙烯-二烯基苯，25.0 cm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：0.4 mmol·L^{-1} 苯甲酸钠（pH11.6），等度冲洗

流　速：2 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：电导



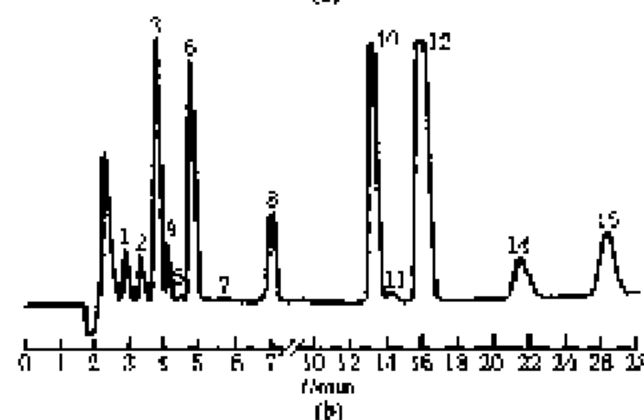


图 11-99　15 种阴离子分离色谱图[38]

色谱峰：1—乙酸根；2—甲酸根；3—ClO_2^-；4—氯乙酸根；5—CO_3^{2-}；6—BrO_3^-；7—Cl^-；8—二氯乙酸根；9—PO_4^{3-}；10—Br^-；11—ClO_3^-；12—NO_3^-；13—SO_4^{2-}；14—三氯乙酸；15—草酸根［所有溶质均为 2 mg·L^{-1}（除 CO_3^{2-}）］

色谱柱：IonPac AG 12A/AS 12A

流动相：H_3BO_3，$Na_2B_4O_7$·$10H_2O$

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：紫外和抑制电导相耦合

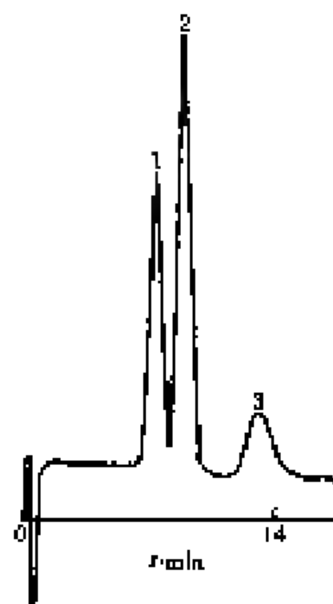


图 11-101　3 种阴离子分离色谱图[40]

色谱峰：1—$B_4O_7^{2-}$；2—F^-；3—SO_4^{2-}

色谱柱：PRP-X100（Hamilton）聚甲基化聚苯乙烯-二乙烯基苯，25.0 cm×4.6 mm（内径）

流动相：0.0032 mol·L^{-1} KOH，等度冲洗

流　速：3 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：电导

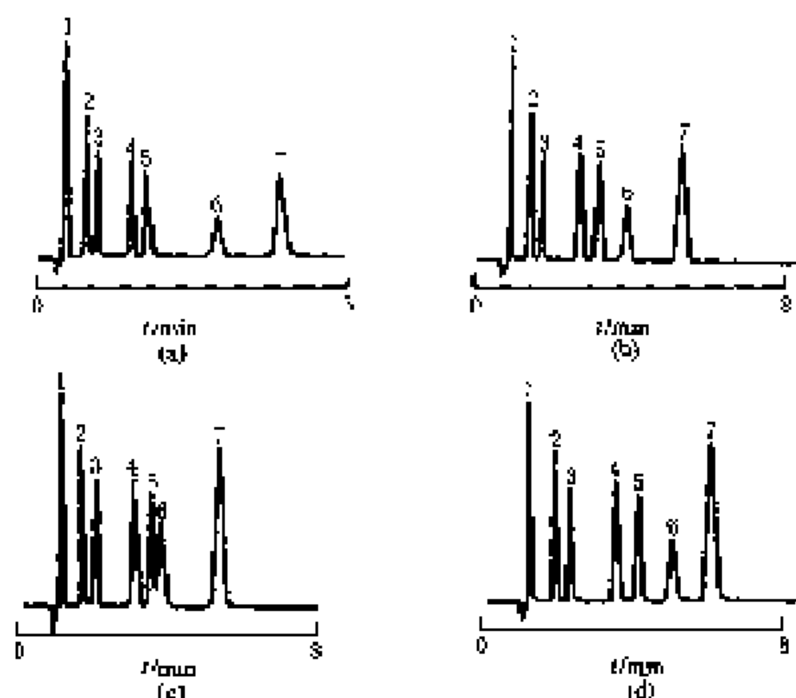


图 11-102 CO_3^{2-}-HCO_3^- 流动相组分对阴离子交换选择性影响色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—PO_4^{3-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Dionex AS4A-SC

流动相：(a) 1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$；

(b) 2.7 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋2.6 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$；

(c) 3.6 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋3.4 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$；

(d) 4.0 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋1.5 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

流　速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导

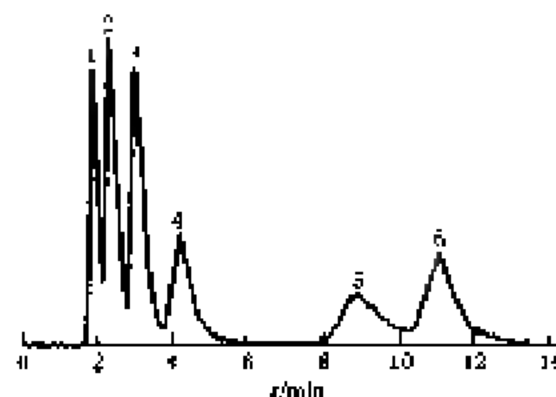


图 11-103 Se 标准样的阴离子交换色谱图[34]

色谱峰：1—硒代胱氨酸；2—甲基-硒代胱氨酸；3—亚硒酸盐；4—硒代蛋氨酸；5—Se-烯丙基 DL-硒代胱氨酸；6—SeO_4^{2-}

色谱柱：Hamilton PRP X-100 PEEK 阴离子交换柱，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1}柠檬酸铵缓冲液（pH4.8）＋2%甲醇

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：Perkin Elmer Elan 5000 诱导耦合血浆质谱仪

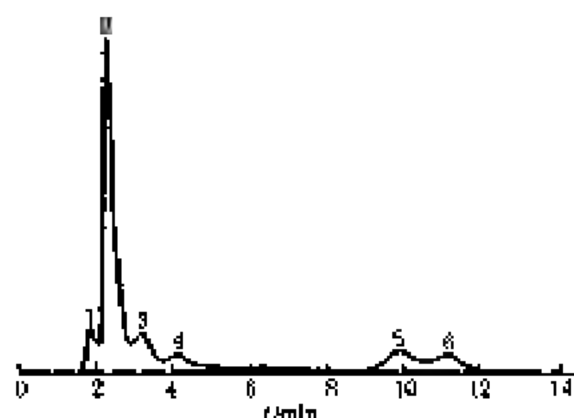


图 11-104 Se-蒜阴离子交换色谱图[illegible]

色谱峰：1—Se-代胱氨酸；2—Se-甲基 DL-硒代胱氨酸；3—亚硒酸盐；4—硒代蛋氨酸；5—未知；6—SeO_4^{2-}

色谱柱：Hamilton PRP-X-100 PEEK 阴离子交换柱，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1}柠檬酸铵缓冲液（pH4.8）＋2%甲醇

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：PerKin Elmer Elan 5000 诱导耦合血浆质谱仪

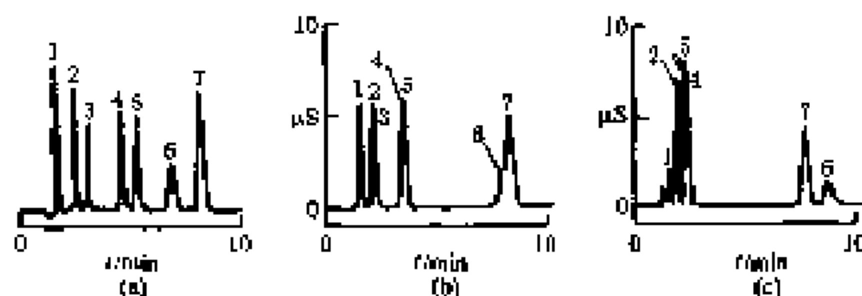


图 11-105　乙腈加入对阴离子交换选择性的影响[34]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—PO_4^{3-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Dionex AS4A SC

流动相：1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$ 含有 (a) 0%乙腈；(b) 20%乙腈；(c) 50%乙腈

固定相：(a) 5%交联 VBC Latex；

(b) 1%交联 VBC Latex；

(c) 5%交联 GM Latex

流　速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导

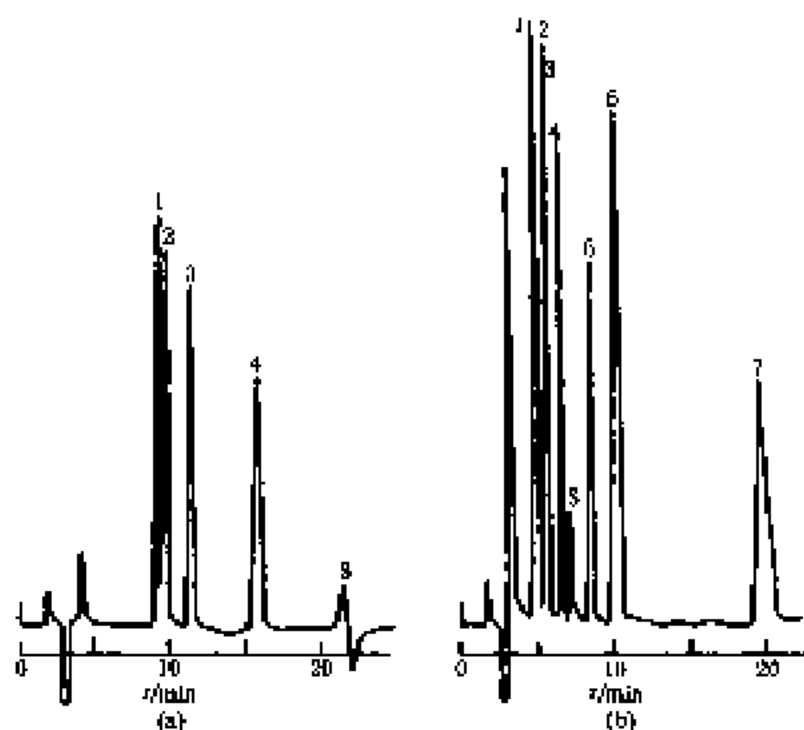


图 11-106　7种硫的氧化阴离子混合物色谱图[36]

色谱峰：1—SO_4^{2-} (50 μm)；2—$S_2O_3^{2-}$ (50 μm)；3—$S_2O_6^{2-}$ (50 μm)；4—$S_3O_6^{2-}$ (50 μm)；5—$S_4O_6^{2-}$ (50 μm)；6—$S_5O_6^{2-}$ (100 μm)；7—$S_6O_6^{2-}$ (100 μm)；S—系统峰

色谱柱：Kaseisorb LC ODS Super，150 mm×4.6 mm (内径)

流动相：(a) CH_3CN＋水 (体积比＝10：90) pH5.0 内含 0.2 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH；

(b) CH_3CN＋水 (体积比＝20：80) pH5.0 内含 0.2 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH

检测器：电导

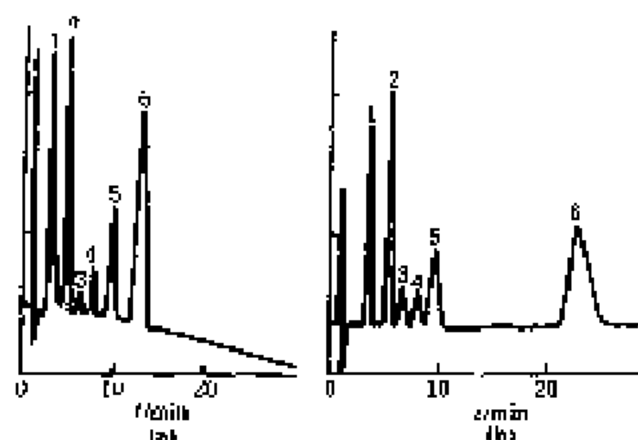


图 11-107　二价和一价洗脱剂选择性比较谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—SO_4^{2-}

色谱柱：HEMA S 1000Q-L PEEK，150 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：(a) 0.5 mmol·L^{-1}磺酸基水杨酸（pH5.4）；(b) 4.0 mmol·L^{-1}水杨酸（pH5.8）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

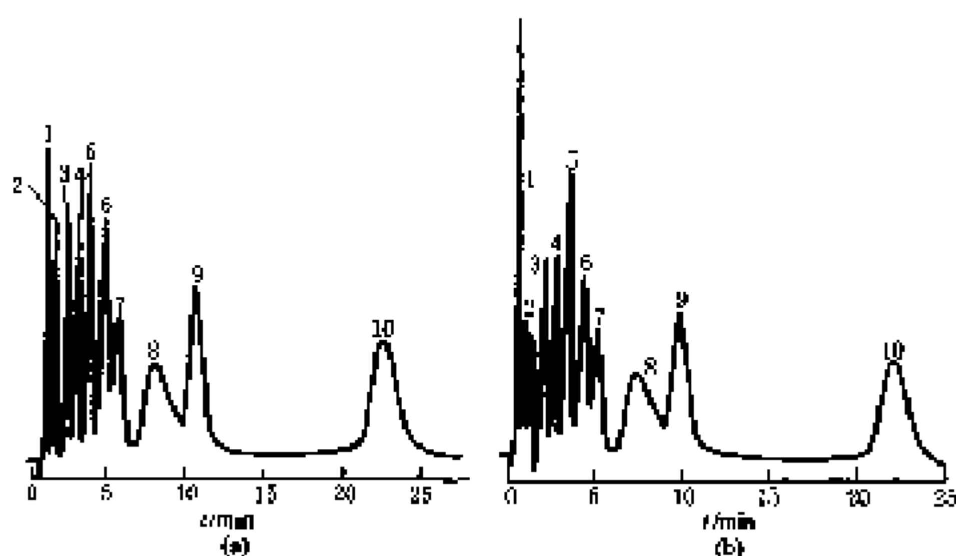


图 11-108　10 种阴离子在水（a）和 20000 mg·L^{-1}氯化物中（b）分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—IO_3^-（25 mg·L^{-1}）；2—BrO_3^-（50 mg·L^{-1}）；3—NO_2^-（6 mg·L^{-1}）；4—Br^-（25 mg·L^{-1}）；5—NO_3^-（10 mg·L^{-1}）；6—MoO_4^{2-}（25 mg·L^{-1}）；7—CrO_4^{2-}（50 mg·L^{-1}）；8—VO_3^-（50 mg·L^{-1}）；9—I^-（10 mg·L^{-1}）；10—SCN^-（50 mg·L^{-1}）

色谱柱：Waters IC Pak，50 mm×4.6 mm（内径）

流动相：15 mmol·L^{-1} NaCl，内含 5 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.5）

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：UV（210 nm）

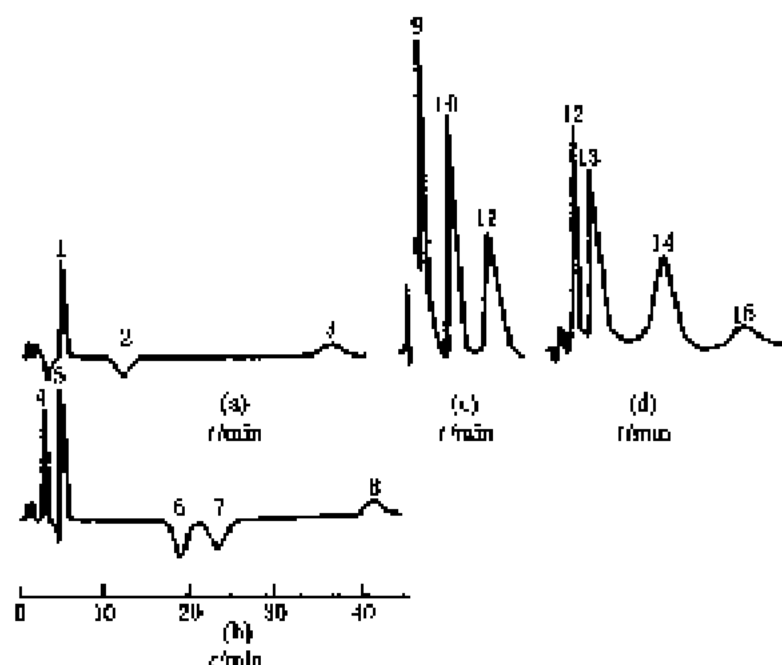


图 11-109 无机阴离子分离色谱图（一）[33]

色谱峰：1—Br^-；2—I^-；3—ClO_4^-；4—Cl^-；5—Br^-；6—I^-；7—SCN^-；8—ClO_4^-；9—ClO_4^-；10—I^-；11—Cl^-；12—ClO_4^-；13—I^-；14—Br^-；15—Cl^-

色谱柱：PTFE，50 mm×4.6 mm（内径）

流动相：(a) 0.02 mol·L^{-1} $LiNO_3$+MeOH；

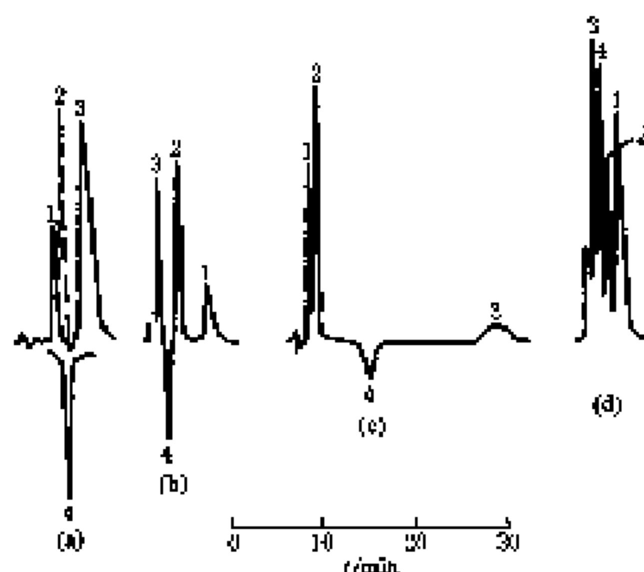
(b) 0.01 mol·L^{-1} Et_4NpNB+MeCN；

(c) 0.02 mol·L^{-1} $LiNO_3$+MeCN-H_2O（体积比=60：40）；

(d) 0.01 mol·L^{-1} Et_4NpNB+DMF

检测器：紫外型，NO_3^-流动相检测波长 246 nm，PNB⁻流动相检测波长 395 nm

流　速：(a)～(c) 1 ml·min^{-1}；(d) 0.7 ml·min^{-1}



色谱峰：1—Cl^-；2—Br^-；3—ClO_4^-；4—I^-

色谱柱：50 mm×4.6 mm（内径）PTFE

流动相：(a) 0.02 mol·L^{-1} $LiNO_3$+MeOH；

(b) 0.02 mol·L^{-1} Et_4NNO_3+MeCN-MeOH（体积比=80：20）；

(c) 0.02 mol·L^{-1} $LiNO_3$+H_2O；

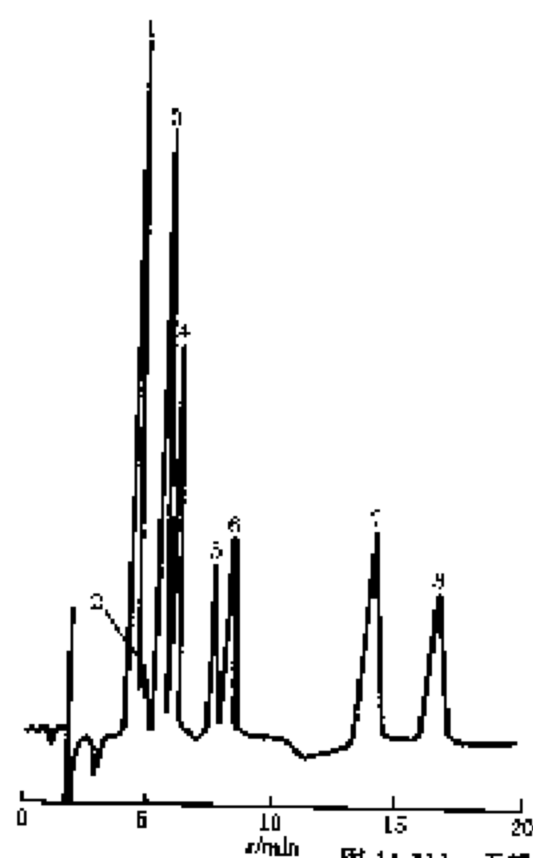
(d) 0.01mol·L^{-1} Et_4NpNB+DMF-MeOH（体积比=75：25）

检测器：紫外型，NO_3^-流动相检测波长（246 nm），pNB⁻流动相检测波长（390 nm）

流　速：(a)～(c) 1 ml·min^{-1}；

(d) 0.6 ml·min^{-1}

图 11-110 无机阴离子分离色谱图（二）[34]



色谱峰：1—F^-；2—HCO_3^-；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—NO_3^-；7—PO_4^{3-}；8—SO_4^{2-}

色谱柱：相互作用MA-100，季胺聚苯乙烯-二乙烯基苯，25 cm×3.2 mm（内径），9 μm

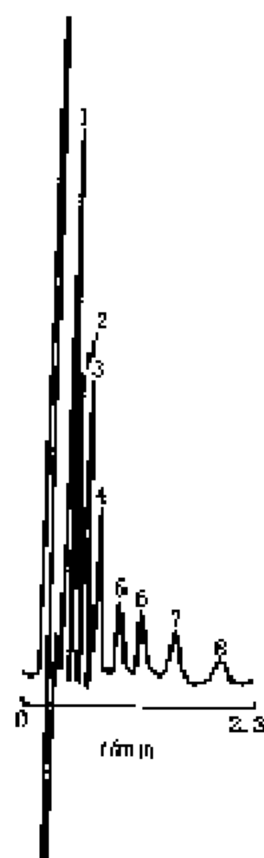
流动相：0.0025 mol·L⁻¹水杨酸钠（以NaOH调至pH8.0）

流　速：0.8 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV（270 nm）反转信号

图11-111　无机阴离子分离色谱图（三）[illegible]



色谱峰：1—F^-；2—CO_3^{2-}；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—NO_3^-；7—PO_4^{3-}；8—SO_4^{2-}

色谱柱：PRP-X100

三甲基化聚苯乙烯-二乙烯基苯，10.0 cm×4.1 mm（内径），10 μm

流动相：40 mmol·L⁻¹对羟基苯甲酸（pH8.5）－甲醇（体积比＝97.5：2.5）

流　速：4.0 ml·min⁻¹

温　度：室温

检测器：UV（310 nm）

图11-112　无机阴离子分离色谱图（四）[illegible]



色谱峰：1—砷酸；2—亚硫酸根；3—F^-；4—甲酸；5—乙

色谱柱：相互作用 IC8101 磺酸化聚苯乙烯-二乙烯基苯，8 μm

流动相：0.005 mol·L^{-1} 1/2 H_2SO_4 等度淋洗

流　速：0.06 ml·min^{-1}

温　度：35℃

检测器：电导

图 11-113　无机和有机离子分离谱图[39]

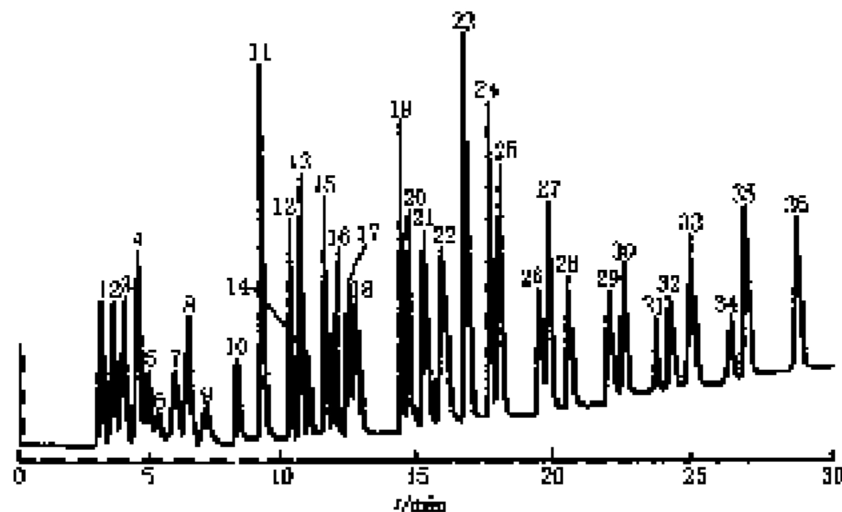


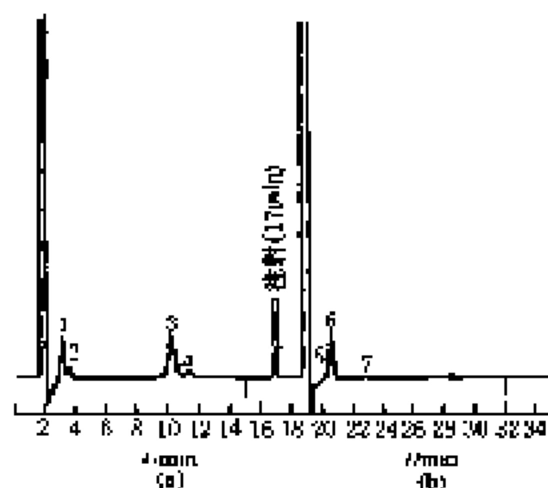
图 11-114　无机及有机阴离子梯度洗脱色谱图[38]

色谱峰：1—F^-(1.5 mg·L^{-1})；2—α-羟基丁酸根(10 mg·L^{-1})；3—乙酸根(10 mg·L^{-1})；4—甘醇酸根(10 mg·L^{-1})；5—丁酸根(10 mg·L^{-1})；6—葡萄糖酸根(10 mg·L^{-1})；7—α-羟基戊酸根(10 mg·L^{-1})；8—甲酸根(5 mg·L^{-1})；9—戊酸根(10 mg·L^{-1})；10—丙酮酸根(10 mg·L^{-1})；11—一氯乙酸根(10 mg·L^{-1})；12—BrO_3^-(10 mg·L^{-1})；13—Cl^-(3 mg·L^{-1})；14—半乳糖醛酸根(20 mg·L^{-1})；15—NO_2^-(5 mg·L^{-1})；16—葡萄糖醛酸根(10 mg·L^{-1})；17—二氯乙酸根(10 mg·L^{-1})；18—三氯乙酸根(10 mg·L^{-1})；19—HPO_3^{2-}(10 mg·L^{-1})；20—SeO_3^{2-}(10 mg·L^{-1})；21—Br^-(10 mg·L^{-1})；22—NO_3^-(10 mg·L^{-1})；23—SO_4^{2-}(10 mg·L^{-1})；24—草酸根(10 mg·L^{-1})；25—SeO_4^{2-}(10 mg·L^{-1})；26—α-酮戊二酸根(10 mg·L^{-1})；27—富马酸根(10 mg·L^{-1})；28—邻苯二甲酸根(10 mg·L^{-1})；29—草乙酸根(10 mg·L^{-1})；30—PO_4^{3-}(10 mg·L^{-1})；31—AsO_4^{3-}(10 mg·L^{-1})；32—CrO_4^{2-}(10 mg·L^{-1})；33—柠檬酸根(10 mg·L^{-1})；34—异柠檬酸根(10 mg·L^{-1})；35—顺乌头酸根(10 mg·L^{-1})；36—反乌头酸根(10 mg·L^{-1})

色谱柱：pellicular 阴离子交换树脂

流动相：NaOH 0.75 mmol·L^{-1} $\xrightarrow{\text{梯度淋洗}}$ 100 mmol·L^{-1}

检测器：抑制电导检测计、阴离子微膜抑制器



色谱峰：1—Cl^-；2—NO_2^-；3—SO_3^{2-}；4—SO_4^{2-}；5—Cl^-；6—NO_2^-；7—NO_3^-

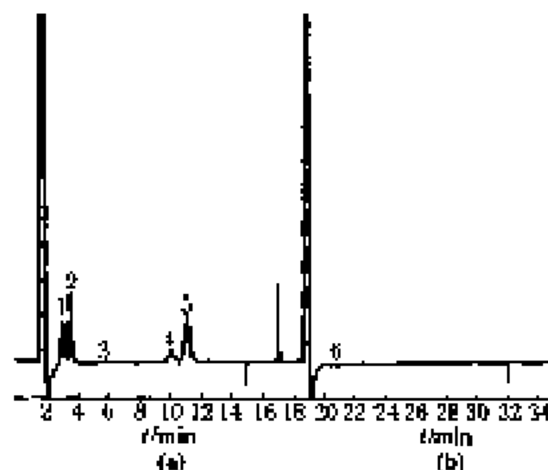
色谱柱：IonPac-AG4A，IonPac-AS4A

流动相：1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3—1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

吸收溶液：5%TEA，10ml

检测器：电导

图 11-115 无机阴离子（收集 NO、SO_2 和 HCl 之后）的谱图（一）[illegible]
(a) 第一吸收瓶；(b) 第二吸收瓶



色谱峰：1—Cl^-；2—NO_2^-；3—NO_3^-；4—SO_3^{2-}；5—SO_4^{2-}；6—NO_3^-

色谱柱：IonPac-AG4A，IonPac-AS4A

流动相：1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3—1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

吸收溶液：5%TEA，10ml

检测器：电导

图 11-116 无机阴离子（收集 NO_2、SO_2 和 HCl 之后）的谱图（二）[illegible]
(a) 第一吸收瓶；(b) 第二吸收瓶

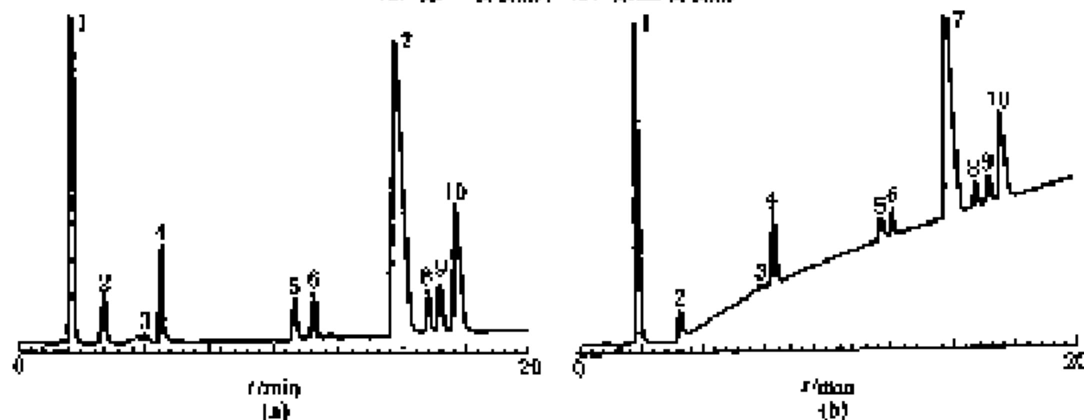


图 11-117 无机阴离子和磷酸盐离子分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—Cl^-；2—NO_2^-；3—二元酸(Ⅱ)；4—SO_4^{2-}；5—PO_4^{3-}；6—三元酸(Ⅰ)；7—Clodronic acid(Ⅴ)；8—氯亚甲基二膦酸；9—亚甲基二膦酸；10—羟基二膦酸

色谱柱：IonPac AS5

柱温：35°C

流动相：(70~100) mmol·L^{-1} NaOH 梯度 20 min 内含有 (a) 0%（体积分数）CH_3CN (b) 10%（体积分数）CH_3CN

检测器：抑制方式压缩电导

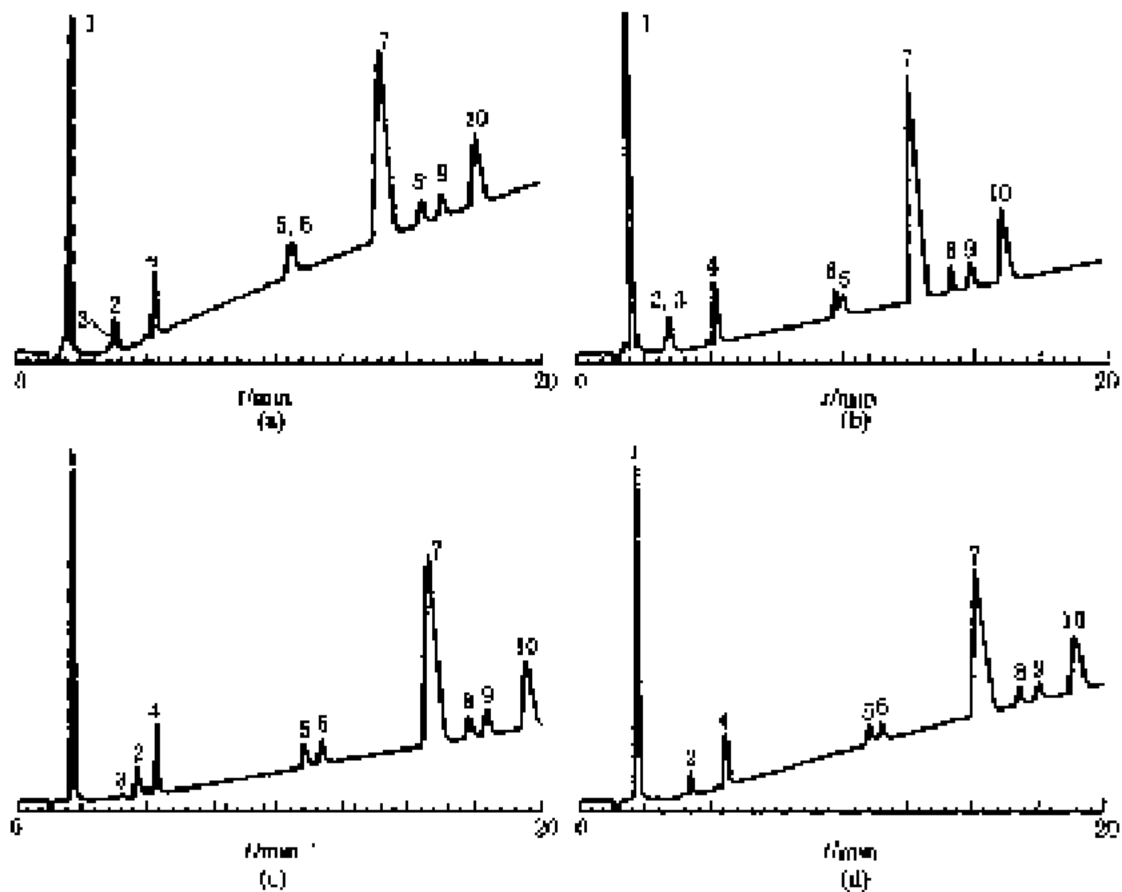


图 11-118 无机阴离子和膦酸根离子分离谱图（二）[24]

色谱峰：1—Cl^-；2—NO_3^-；3—二元酸（Ⅰ）；4—SO_4^{2-}；5—PO_4^{3-}；6—三元酸（Ⅱ）；7—氯屈膦酸（Ⅴ）；8—一氯亚甲基二膦酸；9—亚甲基二膦酸；10—羰基二膦酸

色谱柱：OmniPac PAX500

柱 温：45℃

淋洗液：(50～100) mmol·L^{-1} NaOH 淋洗 20 min 内含有 (a) φ=0% CH_3CN；(b) φ=10% CH_3CN；(c) φ=15% CH_3CN；(d) φ=20% CH_3CN

流 速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：外部水模式抑制电导

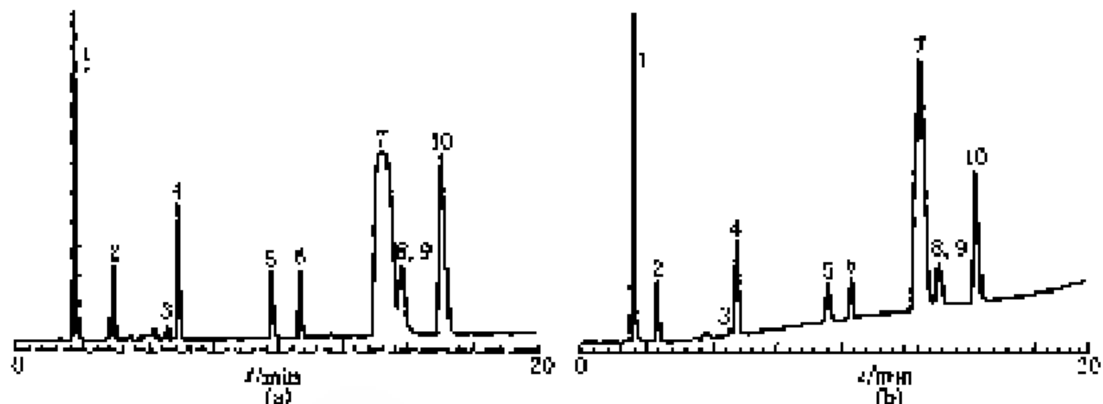


图 11-119 无机阴离子和膦酸根离子分离谱图（三）[25]

色谱峰：1—Cl^-；2—NO_3^-；3—二元酸（Ⅰ）；4—SO_4^{2-}；5—PO_4^{3-}；6—三元酸（Ⅱ）；7—Clodronic acid（Ⅴ）；8—一氯亚甲基二膦酸；9—亚甲基二膦酸；10—羰基二膦酸

色谱柱：IonPac AS11

柱 温：45℃

淋洗液：(20～200) mmol·L^{-1} NaOH 淋洗 20 min 内含 (a) φ=0% CH_3CN (b) φ=10% CH_3CN

流 速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：环形方式抑制电导

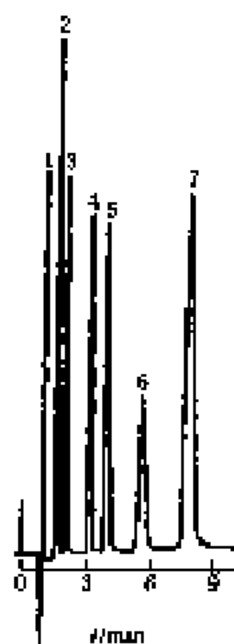


图 11-120　短柱IC分离无机阴离子色谱图[43]

色谱峰：1—F^-（0.5 mg·L^{-1}）；2—Cl^-（1.5 mg·L^{-1}）；3—NO_2^-（2.5 mg·L^{-1}）；4—Br^-（5.0 mg·L^{-1}）；5—NO_3^-（5.0 mg·L^{-1}）；6—HPO_4^{2-}（7.5 mg·L^{-1}）；7—SO_4^{2-}（7.5 mg·L^{-1}）

色谱柱：HPIC-AS4A

流动相：2 mmol·L^{-1} Na_2CO_3，0.75 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

流　速：2 mL·min^{-1}

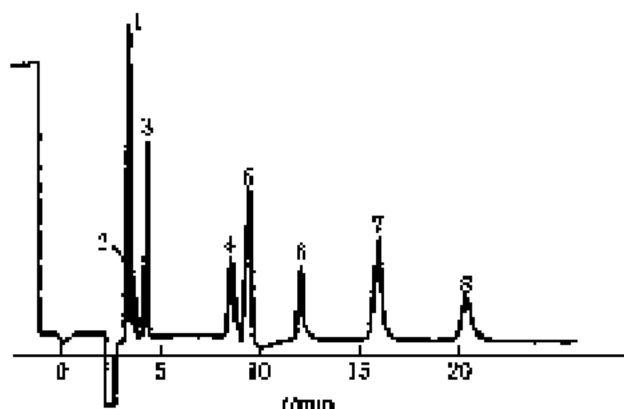


图 11-121　水中阴离子分离色谱图[44]

色谱峰：1—F^-；2—CN^-；3—甲酸根离子；4—CO_3^{2-}；5—Cl^-；6—NO_2^-；7—SO_4^{2-}；8—草酸根离子

色谱柱：Dionex Ion Pac AS10，250 mm×4 mm（内径）

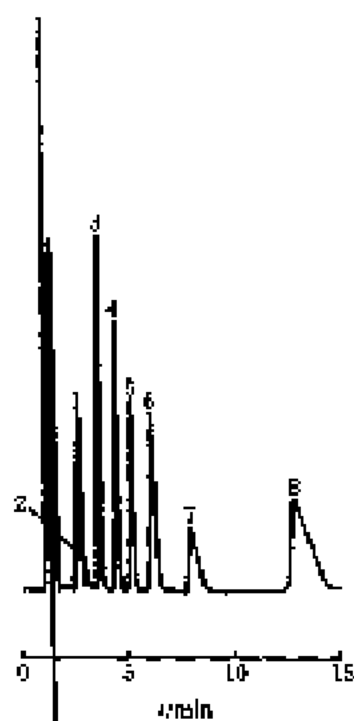
前置柱：Dionex Ion Pac AG10，50 mm×4 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：0.85 mmol·L^{-1} NaOH

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：抑制电导



色谱峰：1—F^-；2—CO_3^{2-}；3—Cl^-；4—NO_2^-；5—Br^-；6—NO_3^-；7—PO_4^{3-}；8—SO_4^{2-}

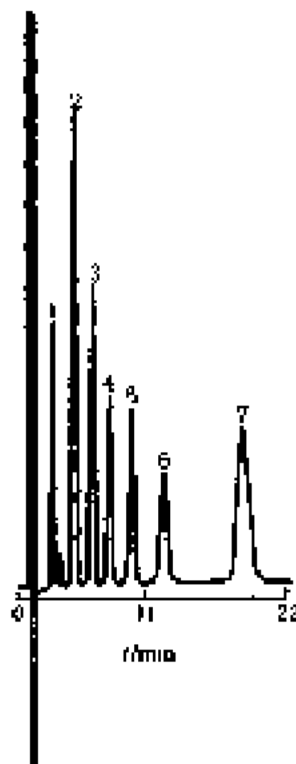
色谱柱：Allsep阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：4 mmol·L^{-1} PHBA（pH7.5用LiOH调定）

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：电导检测

图 11-122　以对羟基苯甲酸为淋洗剂的阴离子分离色谱图[45]



色谱峰：1—F^-(10 mg·L^{-1})；2—Cl^-(20 mg·L^{-1})；3—NO_2^-(20 mg·L^{-1})；4—Br^-(20 mg·L^{-1})；5—NO_3^-(20 mg·L^{-1})；6—PO_4^{3-}(30 mg·L^{-1})；7—SO_4^{2-}(30 mg·L^{-1})

色谱柱：奥龙 Alltech Universal 阴离子，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1}对羟基苯甲酸，用 LiOH 调节 pH 至 7.9

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导

图 11-123　以对羟基苯甲酸为洗脱剂的标准阴离子分离色谱图[illegible]

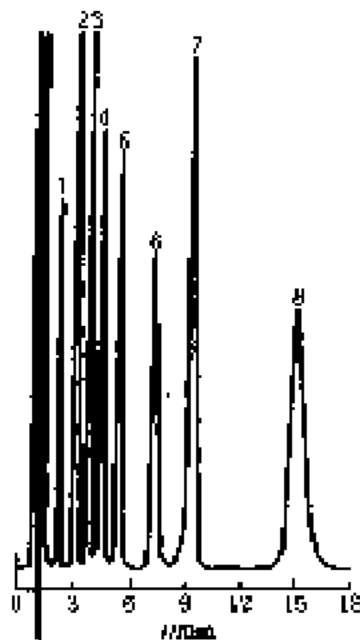


图 11-124　以苯二甲酸为洗脱剂的阴离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—草酸根；7—SO_4^{2-}；8—$S_2O_3^{2-}$

色谱柱：Allsep 阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：4 mmol·L^{-1}苯二甲酸（pH4.8 用 LiOH 调节）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

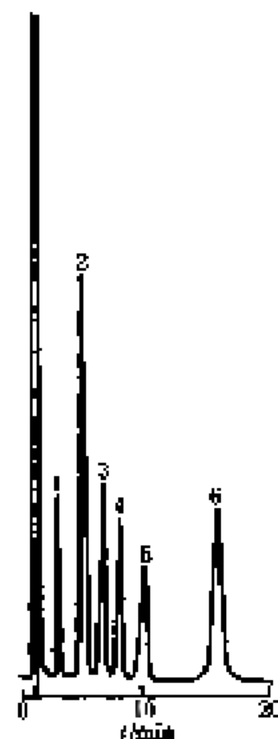


图 11-125　以苯二甲酸为洗脱剂的标准阴离子混合物分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-(10 mg·L^{-1})；2—Cl^-(20 mg·L^{-1})；3—NO_2^-(20 mg·L^{-1})；4—Br^-(20 mg·L^{-1})；5—NO_3^-(20 mg·L^{-1})；6—PO_4^{3-}(30 mg·L^{-1})

色谱柱：奥龙 Alltech Universal 阴离子，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：4 mmol·L^{-1}苯二甲酸，用 LiOH 调节 pH 至 4.5

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导

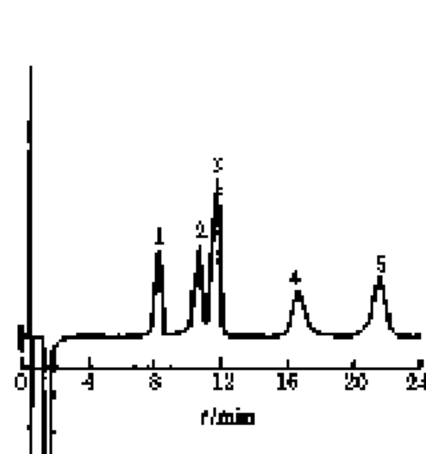


图 11-126　以琥珀酸为洗脱剂的阴离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—PO_4^-；2—PO_3^-；3—PO_4^{3-}；4—Cl^-；5—NO_3^-

色谱柱：Allsep 阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：20 mmol·L^{-1}琥珀酸（pH3.0 用 LiOH 调定）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：电导检测



图 11-128　以碳酸氢盐-碳酸盐为洗脱剂的阴离子分离色谱图[illegible]

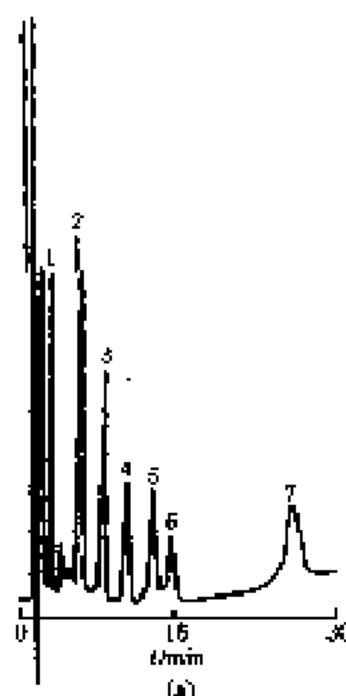
色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—PO_4^{3-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Allsep阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：0.85 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$ + 0.9 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导检测



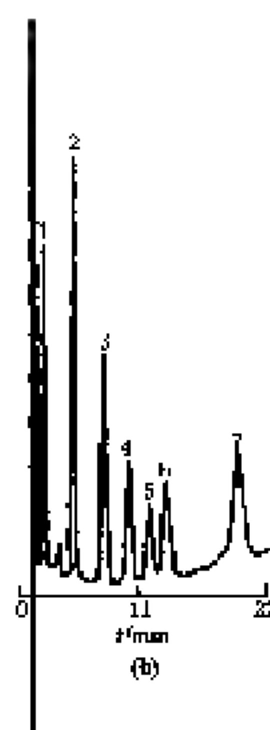


图 11-127　以硼酸-葡萄糖酸为洗脱剂的标准阴离子混合物分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-(10 mg·L^{-1})；2—Cl^-(20 mg·L^{-1})；3—NO_2^-(20 mg·L^{-1})；4—Br^-(20 mg·L^{-1})；5—NO_3^-(20 mg·L^{-1})；6—PO_4^{3-}(30 mg·L^{-1})；7—SO_4^{2-}(30 mg·L^{-1})

色谱柱：150 mm×4.6 mm（内径），填充 Alltech Universal 阴离子

流动相：(a) 硼酸-葡萄糖酸盐 1，用 120 ml 乙腈和 840 ml 水稀释 40 ml 含 25.5 g·L^{-1}硼酸、13.2 ml·L^{-1}葡萄糖酸（w=50%）、7.2 g·L^{-1} $LiOH·H_2O$ 和 94 ml·L^{-1}甘油的混合物制成；

(b) 硼酸-葡萄糖酸盐 2，用 960 ml 水稀释 40 ml 含 25.5 g·L^{-1}硼酸、13.2 ml·L^{-1}葡萄糖酸（w=50%）和 7.2 g·L^{-1} $LiOH·H_2O$ 混合物制成。

流　速：1.0 ml·min^{-1}　　检测器：电导

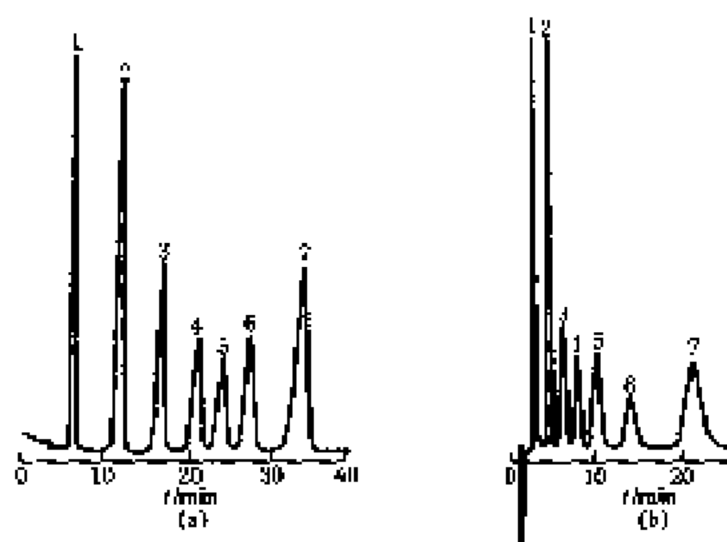


图 11-129　以碳酸盐-碳酸氢盐为洗脱剂的阴离子混合物分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^- (10 mg·L^{-1})；2—Cl^- (20 mg·L^{-1})；3—NO_2^- (20 mg·L^{-1})；4—Br^- (20 mg·L^{-1})；5—NO_3^- (20 mg·L^{-1})；6—PO_4^{3-} (30 mg·L^{-1})；7—SO_4^{2-} (40 mg·L^{-1})

色谱柱：(a) Alltech Universal Anion，150 mm×4.6 mm (内径)；

　　(b) Alltech Universal Anion，50 mm×4.6 mm (内径)

流动相：(a) 2.2 mmol·L^{-1} Na_2CO_3 + 2.8 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$；

　　(b) 0.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3 + 5.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

流　速：(a) 0.7 ml·min^{-1}；(b) 0.8 ml·min^{-1}

检测器：电导

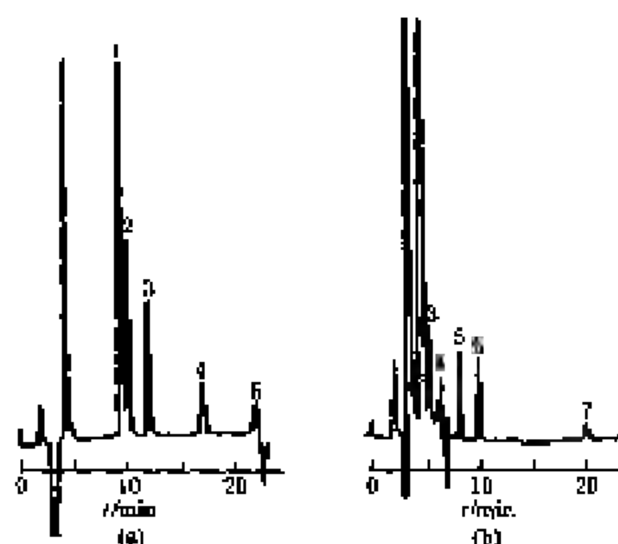


图 11-130　加入到热泉水中硫的氧化阴离子色谱图[illegible]

(a) 25 倍稀释原样到 SO_4^{2-}，$S_2O_3^{2-}$，$S_3O_6^{2-}$ 和 $S_4O_6^{2-}$ 浓度分别为 10.0μmol·L^{-1}，36.0μmol·L^{-1}，30.0μmol·L^{-1}和 21.0 μmol·L^{-1}；(b) 5 倍稀释原样到 $S_3O_6^{2-}$，$S_4O_6^{2-}$，$S_5O_6^{2-}$，$S_6O_6^{2-}$ 和 $S_7O_6^{2-}$ 浓度都达到 15μmol·L^{-1}

色谱峰：1—SO_4^{2-}；2—$S_2O_3^{2-}$；3—$S_3O_6^{2-}$；4—$S_4O_6^{2-}$；5—$S_5O_6^{2-}$；6—$S_6O_6^{2-}$；7—$S_7O_6^{2-}$

流动相：(a) 乙腈+水 (10+90) pH5.0，内含 0.2 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH；

　　(b) 乙腈+水 (20+80) pH5.0，内含 0.2 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH

检测器：电导

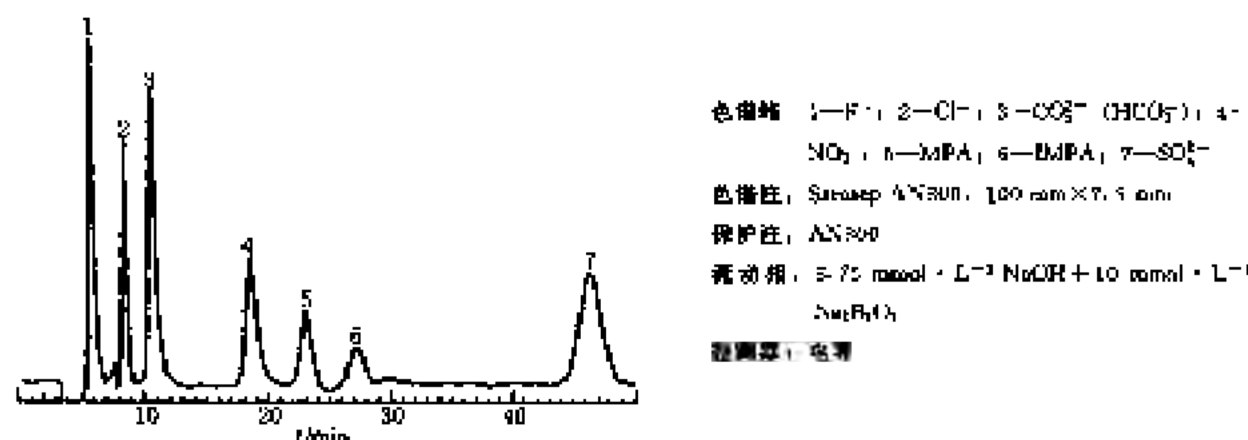


图 11-131 去离子水中普通阴离子和IMPA/MPA混合物的色谱图[16]

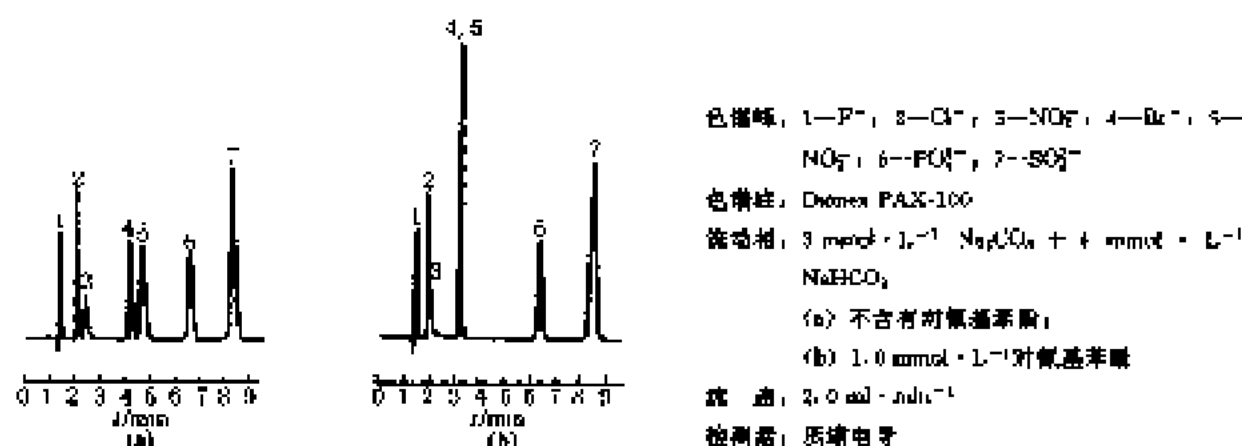


图 11-132 对氰基苯酚加入对阴离子交换选择性影响色谱图[34]

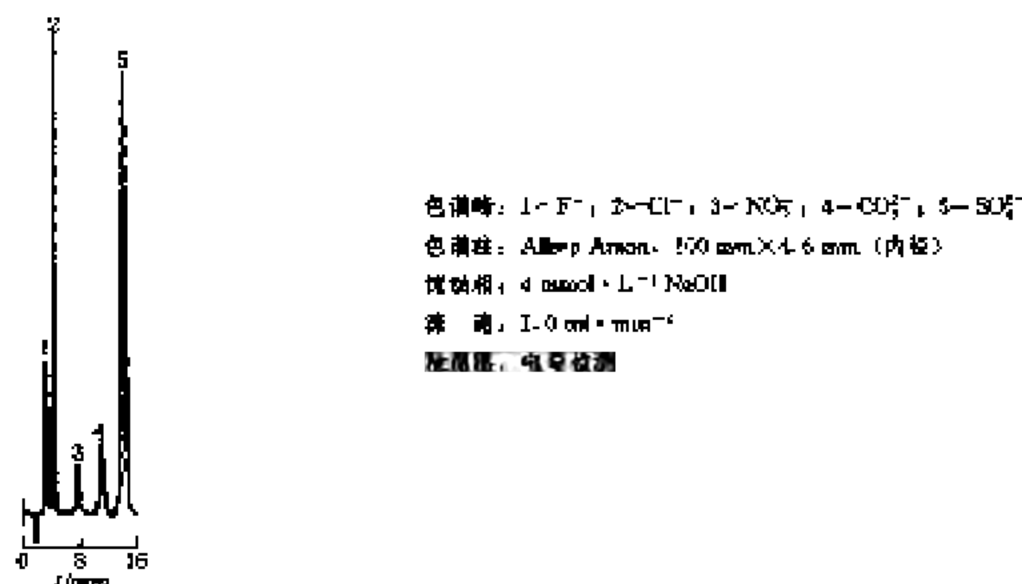


图 11-133 用NaOH作洗脱剂分离自来水中阴离子色谱图[19]

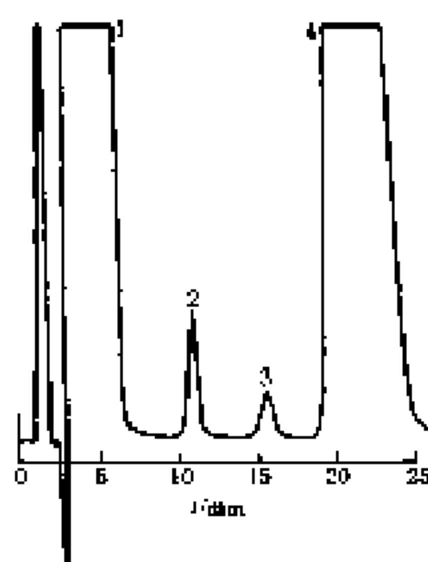


图 11-134 用含有甲醇的洗脱剂分离海水中阴离子色谱图[19]

色谱峰：1—Cl^-；2—Br^-；3—NO_3^-；4—SO_4^{2-}

色谱柱：anion HC，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：2.5 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$ + 2.2 mmol·L^{-1} Na_2CO_3 + 10%甲醇

流　速：1.4 ml·min^{-1}

检测器：电导检测



图 11-135 阴离子分离色谱图[26]

色谱峰：1—Cl^-；2—Br^-；3—I^-；4—CNS^-

色谱柱：pellicular阴离子交换树脂

流动相：0.1 mol·L^{-1} $NaNO_3$，柱后用 0.01 mol·L^{-1} $AgNO_3$ 和硝酸洗涤

检测器：紫外（230 nm）

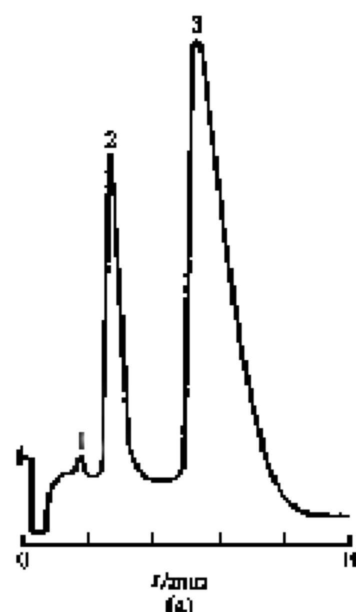


图 11-136 后洗脱阴离子分离色谱图[51]

(a) 色谱峰：1—PO_4^{3-}；2—焦磷酸盐；3—三聚磷酸盐

色谱柱：Alltech泛阴离子 PEEK，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：8 mmol·L^{-1} EDTA 二钠盐

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

(b) 色谱峰：1—Cl^-；2—NO_2^-；3—I^-；4—SCN^-；5—SO_4^{2-}；6—$S_2O_3^{2-}$

色谱柱：Alltech 泛阴离子 PEEK，150 mm×2.1 mm（内径）

流动相：1.5 mmol·L^{-1}辛基磺酸钠

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

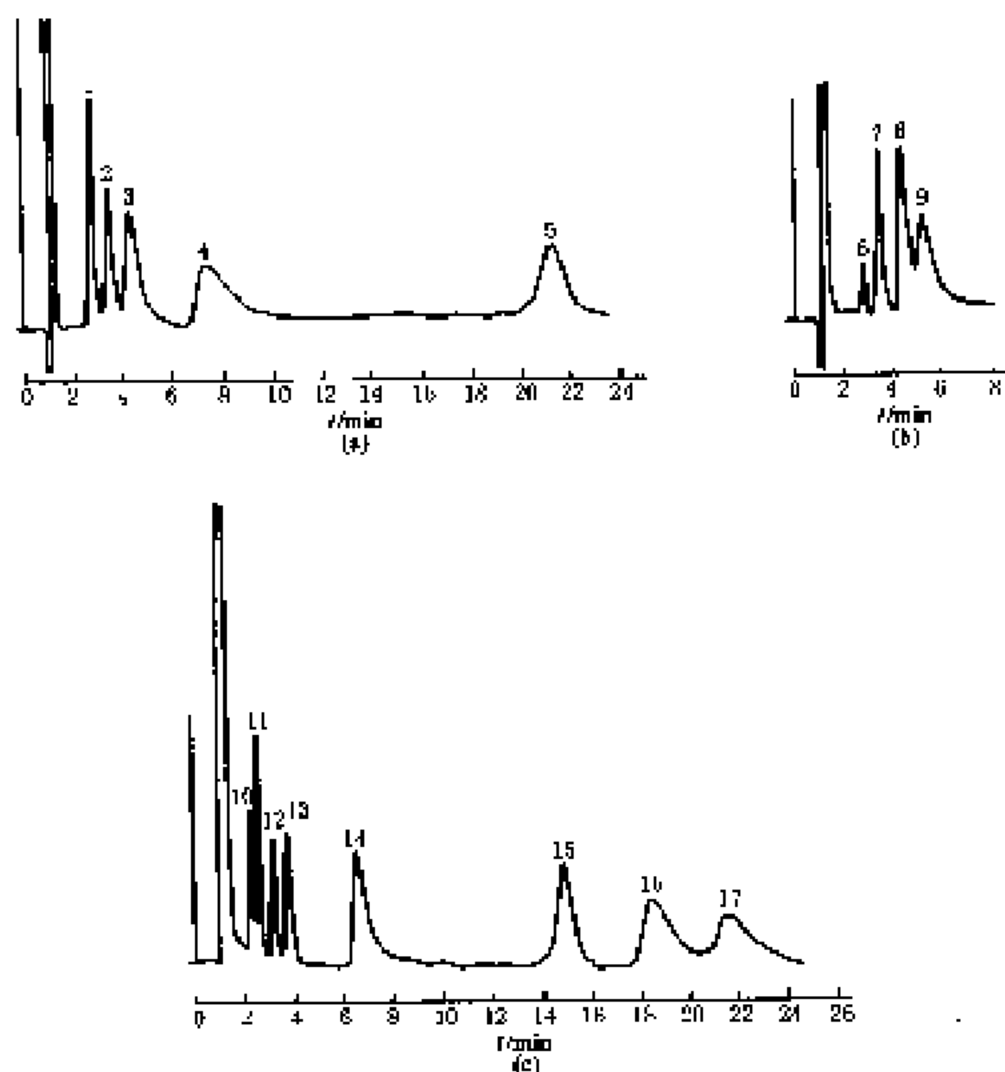


图 11-137　在 PS-DVB 二胺树脂上无机离子分离色谱图[36]

色谱峰：1—Cl^-(40 mg·L^{-1})，2—Br^-(113 mg·L^{-1})，3—NO_3^-(65 mg·L^{-1})，4—I^-(300 mg·L^{-1})，5—SO_4^{2-}(100 mg·L^{-1})，6—IO_3^-(200 mg·L^{-1})，7—BrO_3^-(300 mg·L^{-1})，8—NO_2^-(30 mg·L^{-1})，9—ClO_3^-(150 mg·L^{-1})，10—F^-(22 mg·L^{-1})，11—Cl^-(20 mg·L^{-1})，12—Br^-(63 mg·L^{-1})，13—NO_3^-(45 mg·L^{-1})，14—I^-(200 mg·L^{-1})，15—SO_4^{2-}(100 mg·L^{-1})，16—MoO_4^{2-}(200 mg·L^{-1})，17—CrO_4^{2-}(200 mg·L^{-1})

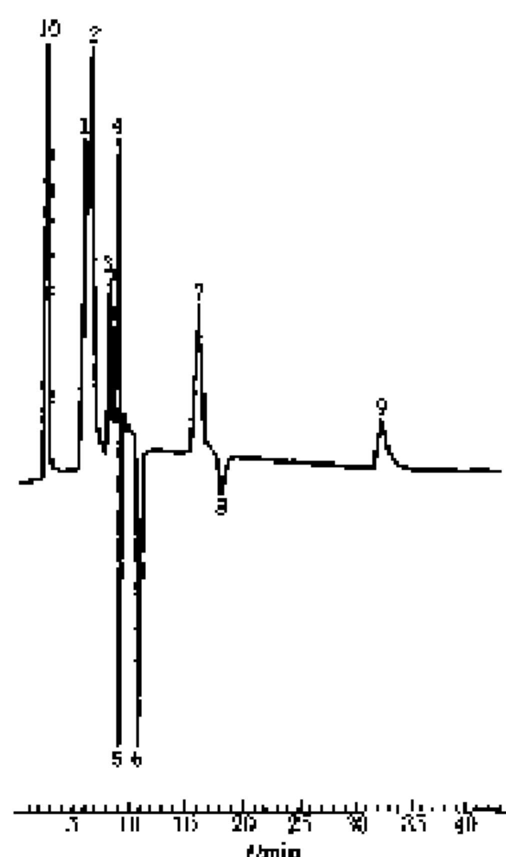
流动相：(a) 邻苯二甲酸氢钠 pH3.77；

(b) 邻苯二甲酸氢钠 pH5.77；

(c) 5.0 mmol·L^{-1}苯甲酸钠 pH6.40

色谱柱：100 mm×4.6 mm

检测器：电导



色谱峰：1—戊胺；2—2,4 苯二胺；3—己胺；4—2-苯乙胺；5—NO_2^-；6—NO_3^-；7—庚胺；8—CO_3^{2-}；9—辛胺；10—进样峰

色谱柱：Hibar LiChrospher RP-18 (Merck)，0.4 cm×25 cm，5 μm

流动相：0.0050 mol·L^{-1}水杨酸辛胺，pH 调至 6.4

流　速：0.7 ml·min^{-1}

进样体积：100μl

检测器：UV (254 nm)

图 11-138　在 UV 吸收离子相互作用试剂存在下胺和阴离子分离色谱图[45]

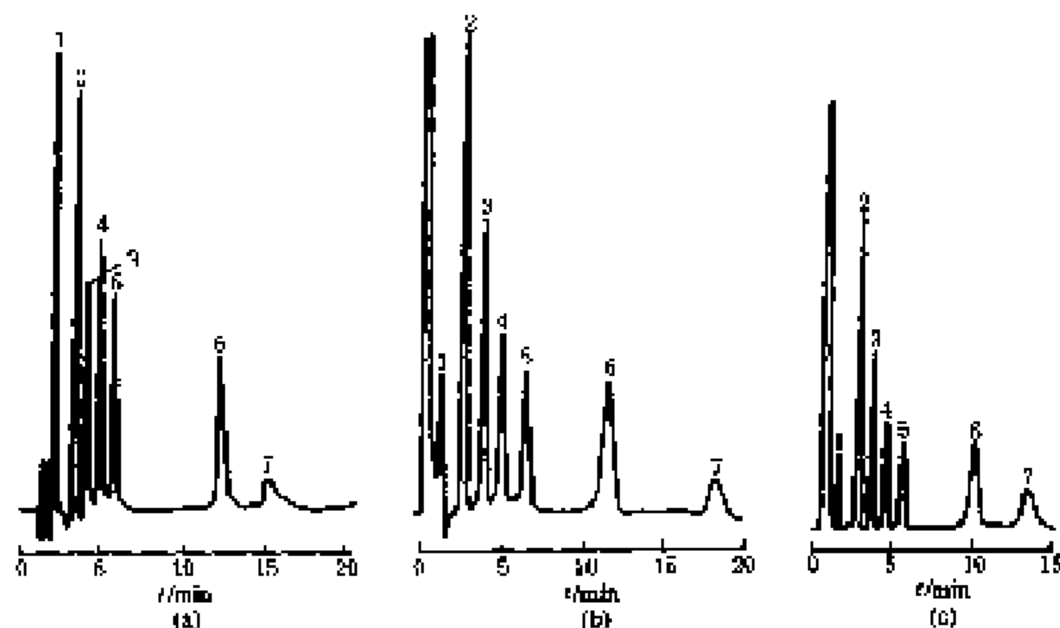


图 11-139　在不同色谱柱上单柱分离无机阴离子色谱图[30]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—SO_4^{2-}；7—I^-

色谱柱：(a) Hamilton PRP-X100；
(b) Bio-Gel TSK IC Anion PW；
(c) Waters IC Pak A；

流动相：(a) 邻苯二甲酸盐 (pH5.5)；
(b) 邻苯二甲酸盐 (pH5.3)；
(c) 邻苯二甲酸盐 (pH7.0)

流　速：(a) 2 ml·min^{-1}；
(b) 1.2 ml·min^{-1}；
(c) 1.2 ml·min^{-1}

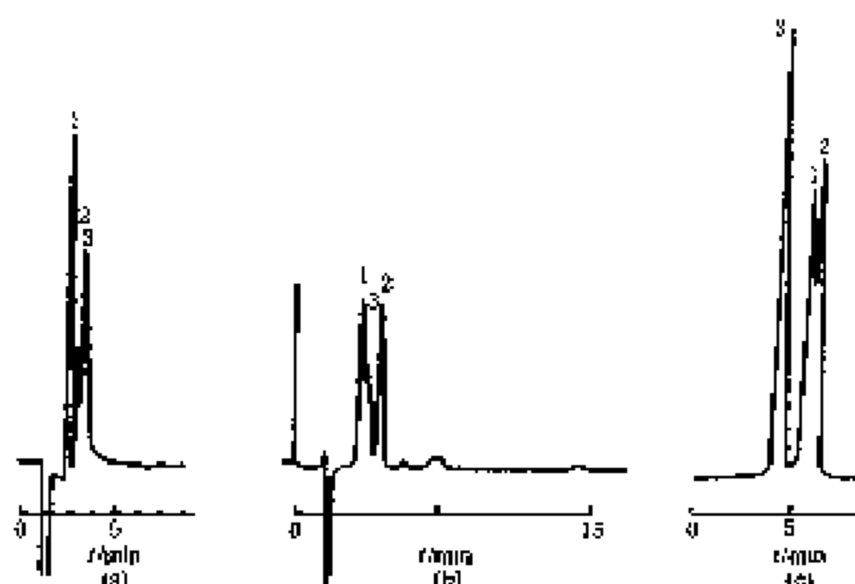


图 11-140　在乙酸盐和甲酸盐存在时 F^- 分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—乙酸盐；2—甲酸盐；3—F^-

色谱柱：HEMA S 1000Q L，150 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：0.5 mmol·L^{-1}磺酸基水杨酸—5%MeOH

(a) pH3.2；(b) pH4.5；(c) 1.5 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：0.6 ml·min^{-1}

检测器：(a)、(b) 间接分光光度计（254 nm）；(c) 抑制电导检测

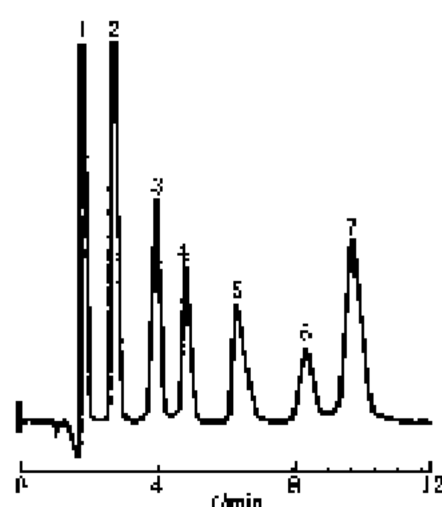


图 11-141　在饮用水中快速分离无机阴离子色谱图[65]

色谱峰：1—F^-，2—Cl^-，3—NO_2^-，4—Br^-，5—NO_3^-，6—PO_4^{3-}，7—SO_4^{2-}

色谱柱：Allsep阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：0.85 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$ ＋ 0.9 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：1.1 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

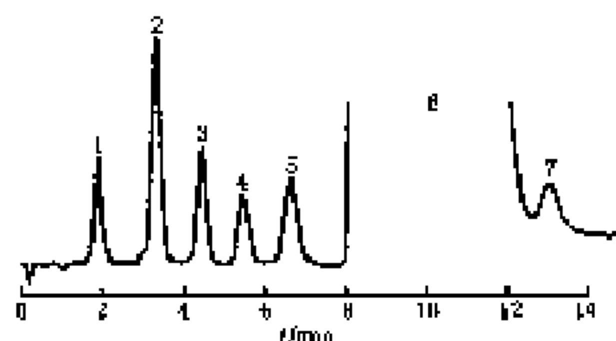


图 11-142　在高浓度磷酸盐化合物中低浓度阴离子分析色谱图[66]

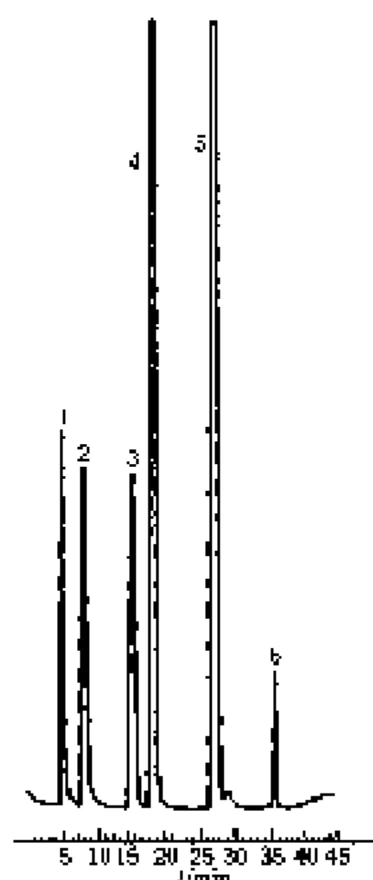
色谱峰：1—F^-(0.5 mg·L^{-1})，2—Cl^-(1 mg·L^{-1})，3—NO_2^-(2 mg·L^{-1})，4—Br^-(2 mg·L^{-1})，5—NO_3^-(2 mg·L^{-1})，6—PO_4^{3-}(500 mg·L^{-1})，7—SO_4^{2-}(2 mg·L^{-1})

色谱柱：IC Pak Anion

流动相：溶剂A为水，溶剂B为100 mmol·L^{-1}硼酸，用NaOH调节pH至8.3

线性梯度：

时间/min	φ(B)/%
0	50
7	50
20	100



色谱峰：1—1,4-苯二胺；2—2-苯乙胺；3—3-苯丙胺；4—NO_2^-；5—NO_3^-；6—二苯胺

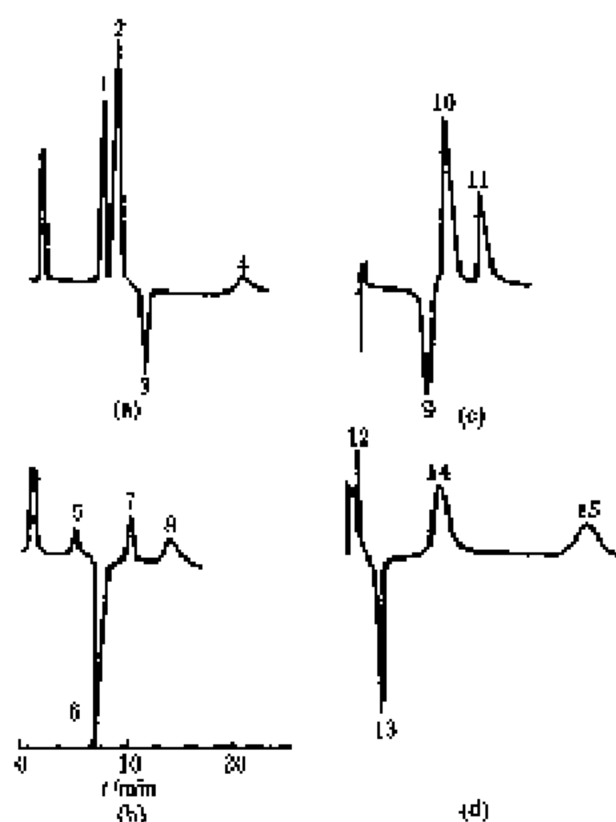
色谱柱：Hibar LiChrosphere RP-18 (Merck)，0.4 cm×25 cm，5 μm

流动相：0.0050 mol·L^{-1}正辛酸的辛胺水溶液，pH 调至 6.2

流　速：0.7 ml·min^{-1}

检测器：UV (220 nm)

图 11-143　在紫外非吸收离子相互作用试剂下胺和阴离子分离色谱图[illegible]



色谱峰：1—Cl^-；2—Br^-；3—I^-；4—ClO_3^-；5—ClO_4^-；6—I^-；7—Br^-；8—Cl^-；9—I^-；10—ClO_3^-；11—Cl^-；12—ClO_4^-；13—I^-；14—Br^-；15—Cl^-

固定相：(a)，(b) TSKgel IC-Anion-SW（—$N(Et)_2Me^+$ 阴离子树脂）；

(c)，(d) 氨丙化硅胶（—NH_3^+ 阴离子交换树脂）

流动相：(a) 0.01 mol·L^{-1} $LiNO_3$+MeOH；

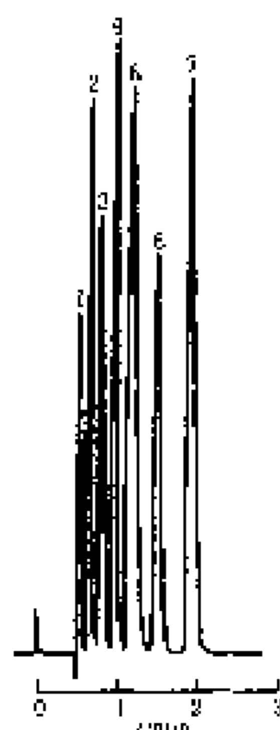
(b) 0.01 mol·L^{-1} Et_4NNO_3+MeCN-MeOH（体积比=75∶25）；

(c) 0.01 mol·L^{-1} $LiNO_3$+MeOH；

(d) 0.01 mol·L^{-1} Et_4NNO_3+MeCN-MeOH（体积比=80∶20）

检测器：UV (246nm)

图 11-144　阴离子交换树脂和硅胶阴离子交换色谱图[52]



色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—HPO_4^{2-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Fast Anion（Dionex）表面功能化薄壳阴离子交换柱，25.0 cm×4 mm（内径），15 μm

流动相：2 mmol·L⁻¹硼酸盐，0.15 mol·L⁻¹ HCO_3^- 盐，等度冲洗

流　速：2 ml·min⁻¹

柱　温：室温

检测器：电导

图 11-145　阴离子快速分离色谱图[21]

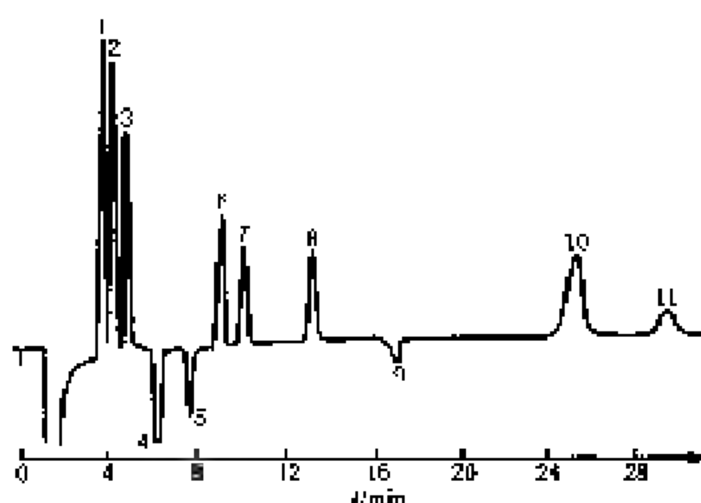


图 11-146　阴离子标准样色谱图[22]

色谱峰：1—Cl^-（4 μg·ml⁻¹）；2—HCO_2^-（5 μg·ml⁻¹）；3—CH_3COO^-（[illegible] μg·ml⁻¹）；4—NO_3^-（4 μg·ml⁻¹）；5—I^-（5 μg·ml⁻¹）；6—ClO_3^-（5 μg·ml⁻¹）；7—$ClCH_2COO^-$（5 μg·ml⁻¹）；8—ClO_4^-（15 μg·ml⁻¹）；9—SCN^-（10 μg·ml⁻¹）；10—Cl_2CHCOO^-（15 μg·ml⁻¹）；11—SO_4^{2-}（5 μg·ml⁻¹）

色谱柱：填充 Lichrospher RP-18（Merck）200 mm×4.6 mm（内径）

流动相：23 mmol·L⁻¹ $[Fe(CN)_6]^{3-}$

流　速：1 ml·min⁻¹

进样体积：20 μl

检测器：A UV（205 nm）

B 电导

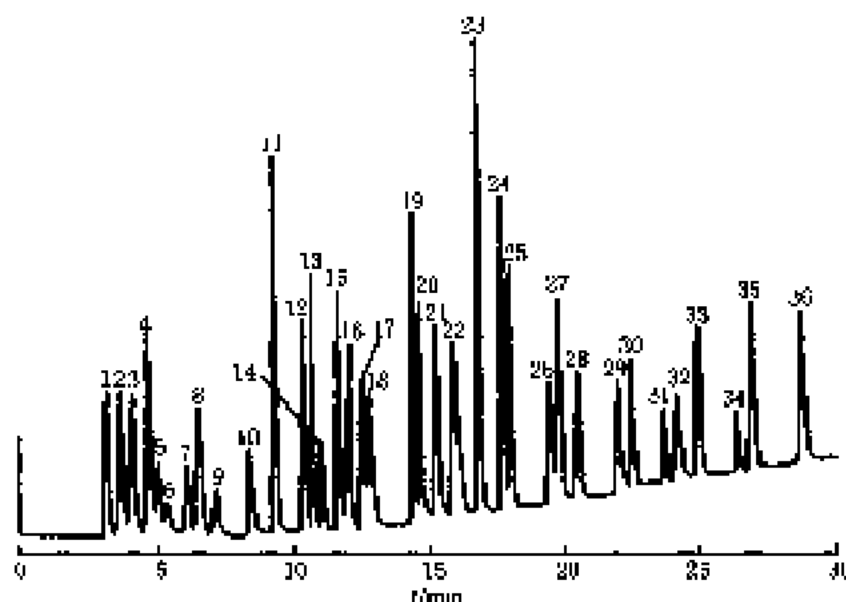


图 11-147 阴离子梯度分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-；2—α-羟基丁酸离子根；3—CH_3COO^-；4—甘醇酸根离子；5—丁酸根离子；6—葡萄糖酸根离子；7—戊酸根离子；8—甲酸根；9—戊酸根；10—丙酮酸根；11—一氯乙酸根；12—溴酸根；13—Cl^-；14—半乳糖醛酸根阴离子；15—NO_2^-；16—葡萄糖醛酸根；17—二氯乙酸根；18—三氟乙酸根；19—HPO_3^{2-}；20—亚硒酸根；21—Br^-；22—NO_3^-；23—SO_4^{2-}；24—草酸根；25—硒酸根；26—α-酮戊二酸根；27—富马酸根；28—邻苯二甲酸根；29—草乙酸根；30—钨酸根；31—砷酸根；32—磷酸根；33—柠檬酸根；34—异柠檬酸根；35—顺-乌头酸；36—反-乌头酸

色谱柱：IonPac®AS5A（Dionex）表面功能化季铵阴离子交换器，15.0 cm×4.0 mm（内径），5 μm

淋洗液：A 0.75 mmol·L^{-1} NaOH，B 100 mmol·L^{-1} NaOH

梯度淋洗：5 min 内 100%A，10 min 内从 100%A 变至 70%A+30%B，15 min 70%A+30%B 变至 14%A+86%B

流　速：1.0 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：电导

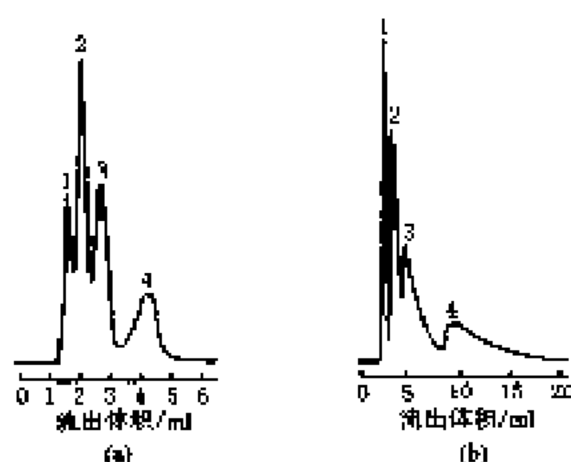


图 11-148 卤化钠分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—NaF，2—NaCl，3—NaBr，4—NaI

色谱柱：(a) 聚胺基酸树脂；

(b) 聚胺基硅胶柱

流动相：水

流　速：(a) 0.15 ml·min^{-1}，(b) 0.30 ml·min^{-1}

检测器：电导

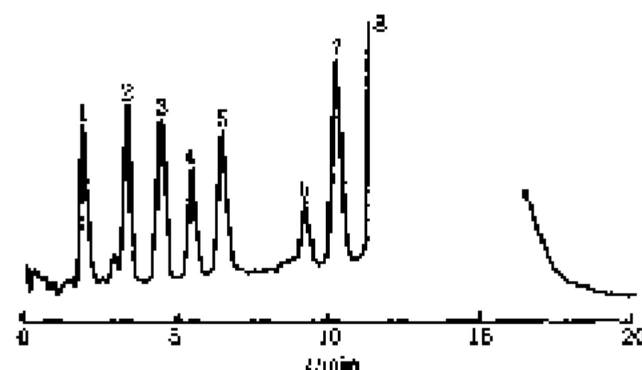


图 11-149 固素化合物中无机离子分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—F^-(0.5 mg·L^{-1})；2—Cl^-(1 mg·L^{-1})；3—NO_2^-(2 mg·L^{-1})；4—Br^-(2 mg·L^{-1})；5—NO_3^-(2 mg·L^{-1})；6—PO_4^{3-}(3 mg·L^{-1})；7—SO_4^{2-}(2 mg·L^{-1})；8—$C_2O_4^{2-}$(500 mg·L^{-1})

色谱柱：IC Pak Anion

流动相：溶剂 A 为水，溶剂 B 为 100 mmol·L^{-1} 硼酸，用 NaOH 调节 pH 至 8.3

线性洗脱：

时间/min	φ(B)/%
0	25
5	50
20	50

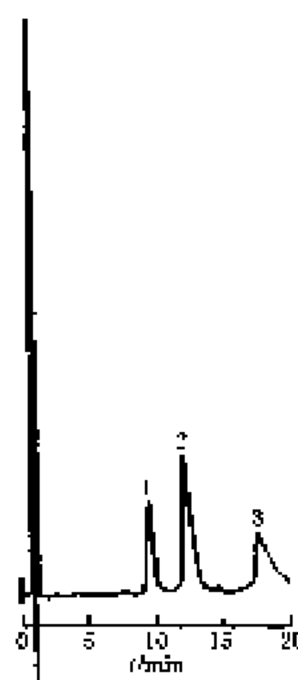


图 11-150 阴离子分离色谱图

色谱峰：1—I^-；2—$S_2O_3^{2-}$；3—SCN^-

色谱柱：Allsep 阴离子柱，100 mm×4.6 mm（内径）

流动相：4 mmol·L^{-1}苯二甲酸（pH4.2 用 LiOH 调定）

流 速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导

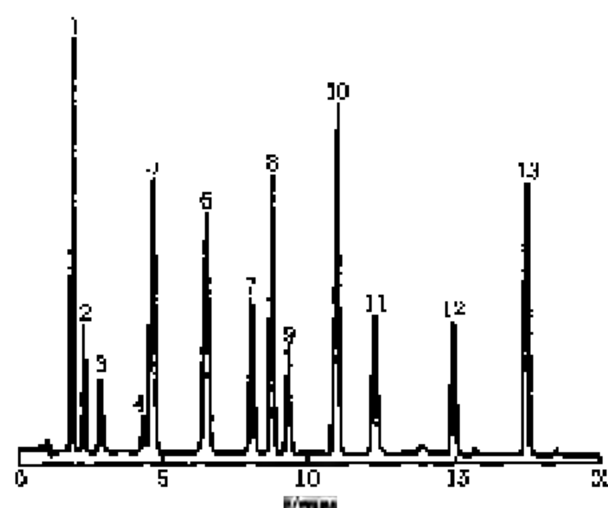


图 11-151 芳香族阴离子的交换分离色谱图

色谱峰：1—苯甲酸盐（40 mg·L^{-1}）；2—苯磺酸盐（40 mg·L^{-1}）；3—对甲苯磺酸盐（40 mg·L^{-1}）；4—对氯苯磺酸盐（40 mg·L^{-1}）；5—对溴苯甲酸盐（30 mg·L^{-1}）；6—3,4-二硝基苯甲酸盐（10 mg·L^{-1}）；7—邻苯二甲酸盐（40 mg·L^{-1}）；8—对苯二甲酸盐（6 mg·L^{-1}）；9—对羟基苯甲酸盐（3 mg·L^{-1}）；10—对羟基苯磺酸盐（2 mg·L^{-1}）；11—2,5-二羟基苯甲酸盐（10 mg·L^{-1}）；12—1,3,5-苯三酸盐（30 mg·L^{-1}）；13—1,2,4,5-苯四酸盐（10 mg·L^{-1}）

色谱柱：填充 Dionex OmniPac PAX-1，250 mm×4 mm

流动相：20%乙腈，1 mmol·L^{-1} NaOH-0.05～0.4 mol·L^{-1} NaCl

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



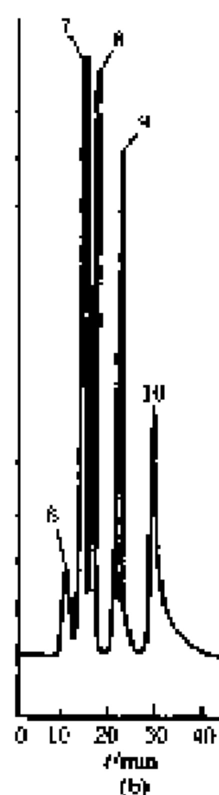


图 11-152 具有共同阴离子的分离色谱图

色谱峰：1—NaCl；2—NaBr；3—$NaNO_3$；4—NaI；5—NaSCN；6—KCl；7—KBr；8—KNO_3；9—KI；10—KSCN

色谱柱：Silica 苯基-18-冠-6

流动相：水

检测器：电导

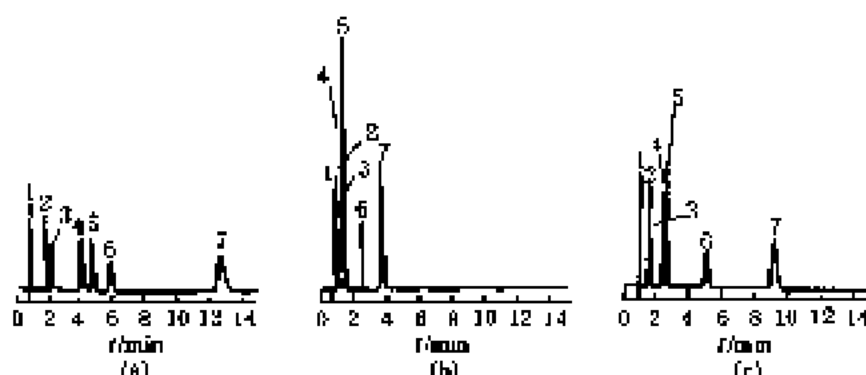


图 11-153　固定相组成对阴离子交换选择性影响色谱图[54]

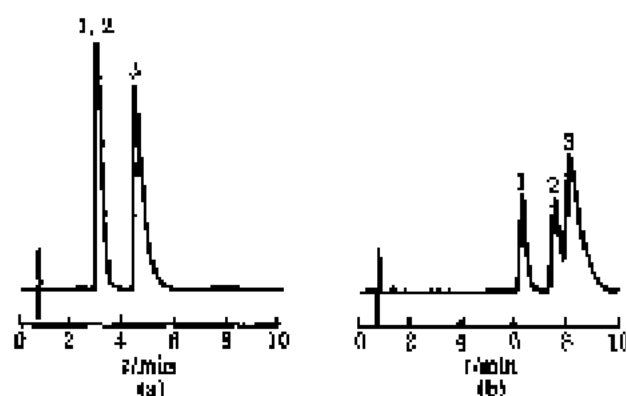
色谱峰：1—F^-，2—Cl^-，3—NO_2^-，4—Br^-，5—NO_3^-，6—PO_4^{3-}，7—SO_4^{2-}

固定相：(a) 5%交联 VBC Latex；(b) 1%交联 VBC Latex；(c) 5%交联 GM Latex

流动相：3 mmol·L⁻¹ Na_2CO_3

流　速：2.0 ml·min⁻¹

检测器：抑制电导



色谱峰：1—I^-，2—BF_4^-，3—SCN^-

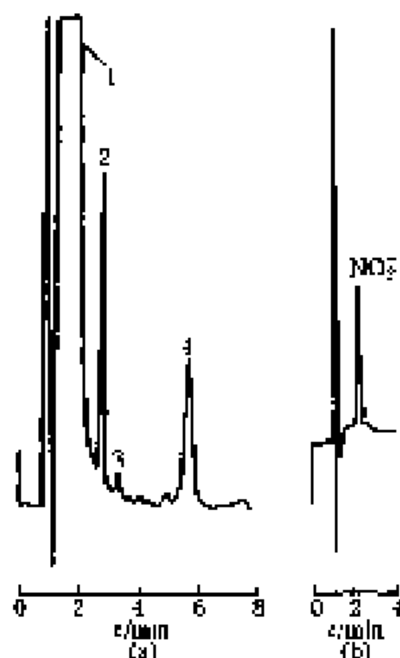
固定相：(a) 1%交联 VBC Latex；(b) 5%交联 GM Latex

流动相：3 mmol·L⁻¹ Na_2CO_3

流　速：2.0 ml·min⁻¹

检测器：抑制电导

图 11-154　固定相组成对极化阴离子分离选择性影响色谱图[54]



色谱峰：1—Cl^-和NO_2^-，2—Br^-，3—NO_3^-，4—PO_4^{3-}

色谱柱：250 mm×4.0 mm（内径），AS4A

保护柱：50 mm×4.0 mm AG4A

流动相：(a) 0.002 mol·L⁻¹ Na_2CO_3+水；(b) 0.02 mol·L⁻¹ NaCl+水

流　速：2 ml·min⁻¹

进样体积：30 μl

检测器：(a) 抑制电导；(b) 安培计，工作电极为玻璃碳极，反电极 Pt，参考电极为 Ag/AgCl/饱和 KCl

图 11-155　海水稀释 20 倍离子色谱图[75]

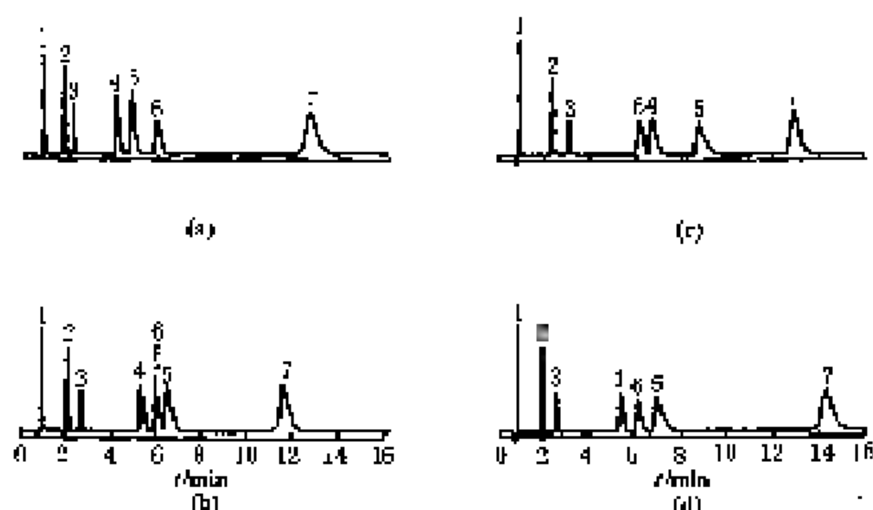


图 11-156　离子交换位结构对阴离子交换选择性影响色谱图[94]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—PO_4^{3-}；7—SO_4^{2-}

固定相：(a) VBC Latex (与 TMA 作用)；

(b) VBC Latex (与 DMEA 作用)；

(c) VBC Latex (与 DMAA 作用)；

(d) VBC Latex (与 DMAP 作用)

流动相：5 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：抑制电导

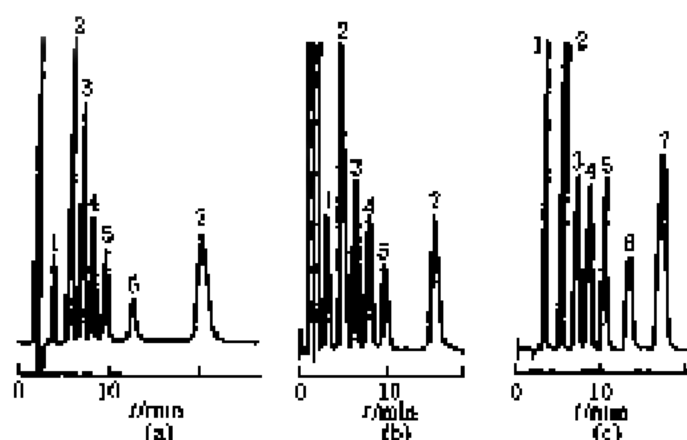


图 11-157　常用淋洗液比较色谱图[95]

色谱峰：1—F^-；2—Cl^-；3—NO_2^-；4—Br^-；5—NO_3^-；6—PO_4^{3-}；7—SO_4^{2-}

色谱柱：Alltech 阴离子 PEEK 柱，150 mm×4.6 mm (内径)

流动相：(a) 5 mmol·L^{-1}对羟基苯甲酸盐 (pH7.9)；(b) 4 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸盐 (pH4.5)；(c) 2.8 mmol·L^{-1} HCO_3^- + 2.2 mmol·L^{-1} CO_3^{2-}

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：电导检测

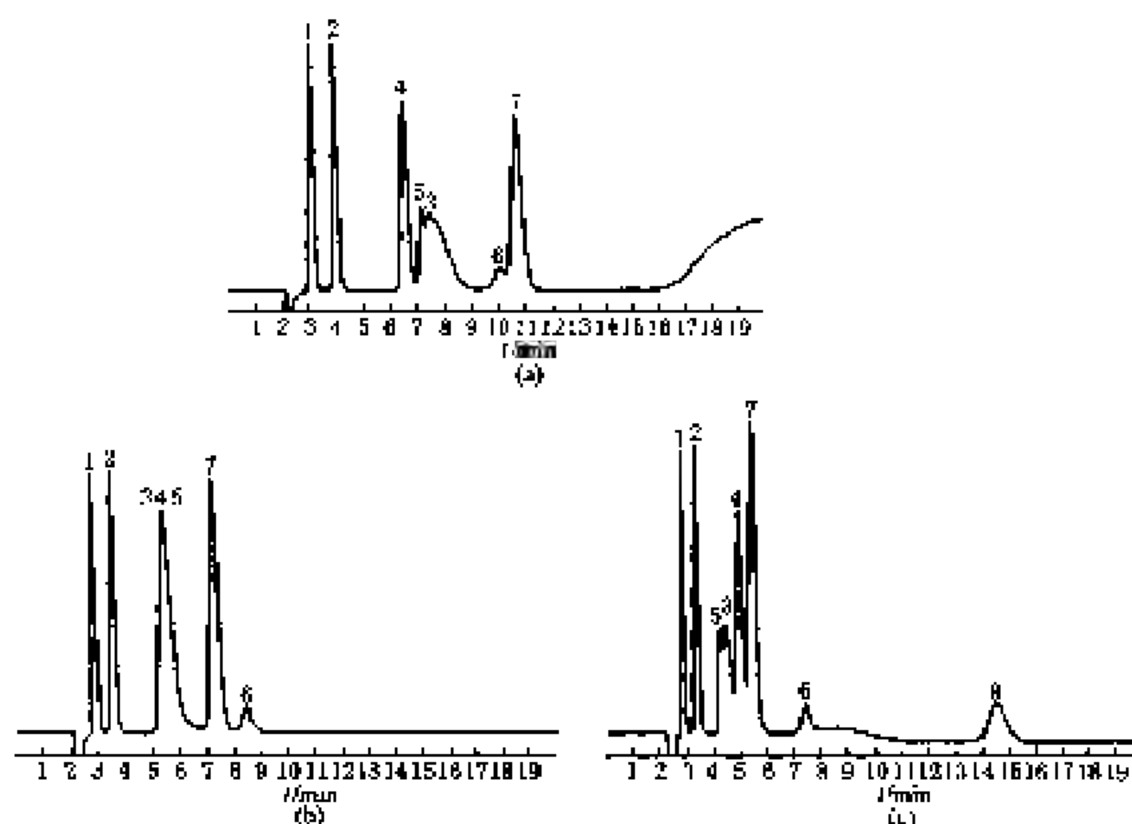


图 11-158 含磷土壤阴离子和 DMPA/MPA 分离色谱图[34]

色谱峰①：1—F^-；2—Cl^-；3—CO_3^{2-}；4—NO_3^-；5—MPA；6—IMPA；7—SO_4^{2-}；8—PO_4^{3-}

① MPA——甲基膦酸；IMPA——异丙基膦酸。

色谱柱：Sarasep AN300，100 mm×7.5 mm

保护柱：AN300

流动相：(a) 10 mmol·L^{-1} NaOH；(b) 15 mmol·L^{-1} NaOH；(c) 20 mmol·L^{-1} NaOH

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：电导

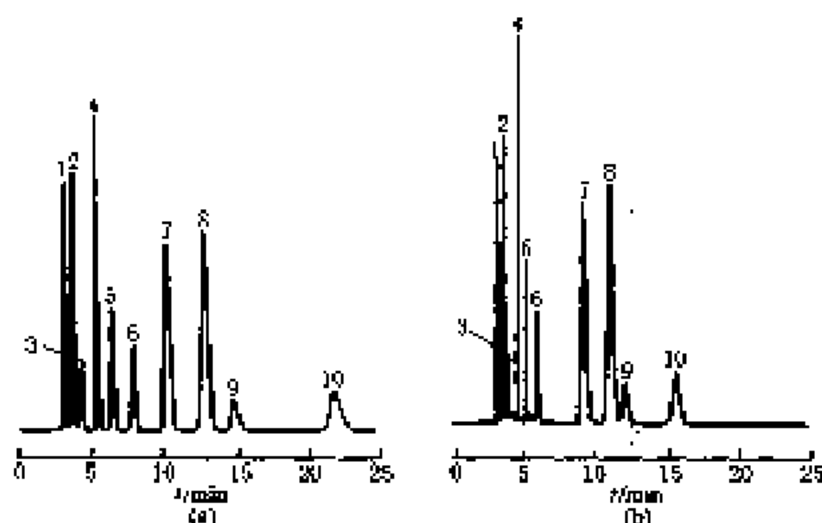


图 11-159 温度对阳离子交换选择性影响谱图[34]

色谱峰：1—Li^+；2—Na^+；3—NH_4^+；4—K^+；5—Rb^+；6—Cs^+；7—Mg^{2+}；8—Ca^{2+}；9—Sr^{2+}；10—Ba^{2+}

色谱柱：Dionex CS 12A

柱　温：(a) 27℃；(b) 60℃

流　速：1.0 ml·min^{-1}

流动相：18 mmol·L^{-1} 甲磺酸

检测器：抑制电导

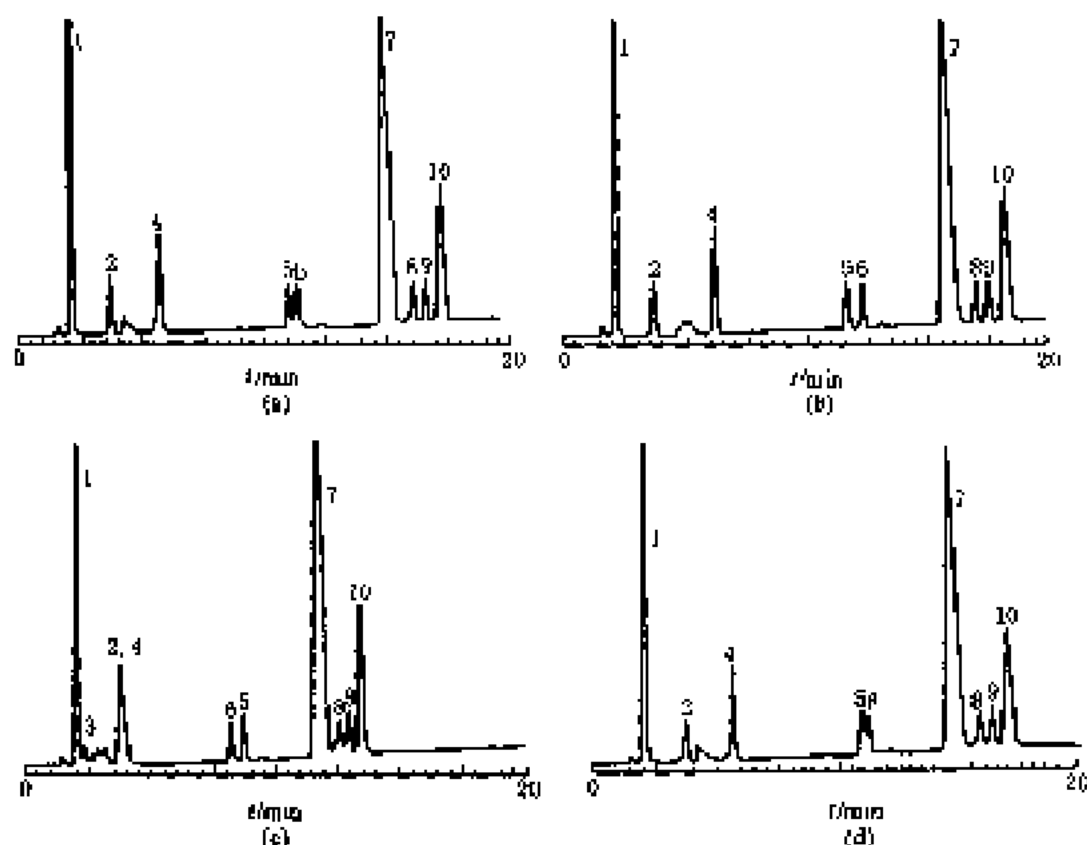


图 11-160　温度对系统适应性影响谱图[60]

(a) 40℃；(b) 25℃；(c) 35℃；(d) 45℃

色谱峰：1—Cl^-；2—NO_2^-；3—二元酸（Ⅰ）；4—SO_4^{2-}；5—PO_4^{3-}；6—二元酸（Ⅱ）；7—Clodronic acid(CA)；8—一氯亚甲基二膦酸；9—亚甲基二膦酸；10—羟基二膦酸

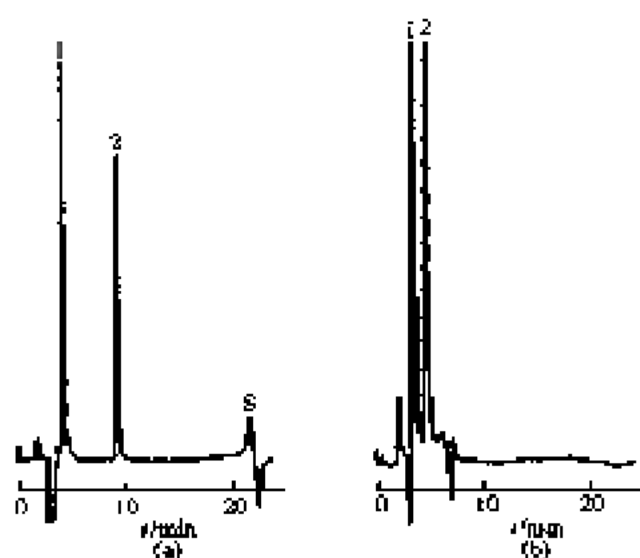
色谱柱：IonPac AS11

柱　温：45℃

流动相：20～100 mmol·L^{-1} NaOH 冲洗 20 min，内含有 (a) φ=0% CH_3CN (b) φ=10% CH_3CN

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：库形方式压缩电导



(a) 25 倍稀释原样；(b) 5 倍稀释原样

色谱峰：1—Cl^-；2—SO_4^{2-}；3—系统峰

流动相：(a) 乙腈+水（体积比=10∶90）pH5.0 内含 0.8 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH

(b) 乙腈+水（体积比=20∶80）pH5.0，内含 0.3 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸和 7 mmol·L^{-1} TPAOH

检测器：电导

图 11-161　稀释的热泉水色谱图[57]

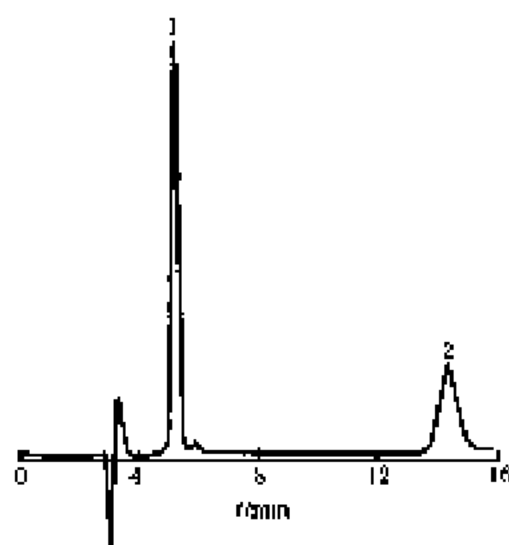


图 11-162　超纯水中微量阴离子色谱图[illegible]

色谱峰：1—Cl^-；2—SO_4^{2-}

色谱柱：Sarasep AN1，250 mm×4.6 mm（内径）

淋洗液：1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$＋1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3

流　速：1.0mL·min^{-1}

检测器：压缩电导

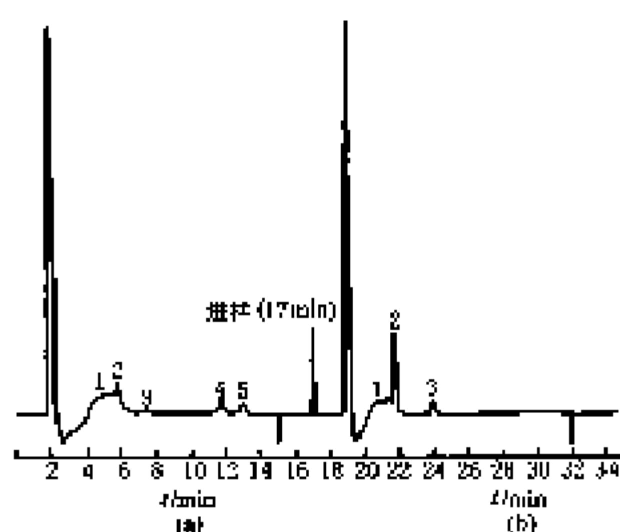


图 11-163　锅炉烟道气中含氧酸根离子色谱图[illegible]

(a) 第一吸收瓶；(b) 第二吸收瓶

色谱峰：(a) 1—CO_3^{2-}；2—NO_2^-；3—NO_3^-；4—SO_3^{2-}；5—SO_4^{2-}

(b) 1—CO_3^{2-}；2—NO_2^-；3—NO_3^-

色谱柱：IonPac-AG4A，IonPac-AS4A

流动相：1.8 mmol·L^{-1} Na_2CO_3＋1.7 mmol·L^{-1} $NaHCO_3$

吸收溶液：5% TEA，10mL

检测器：电导

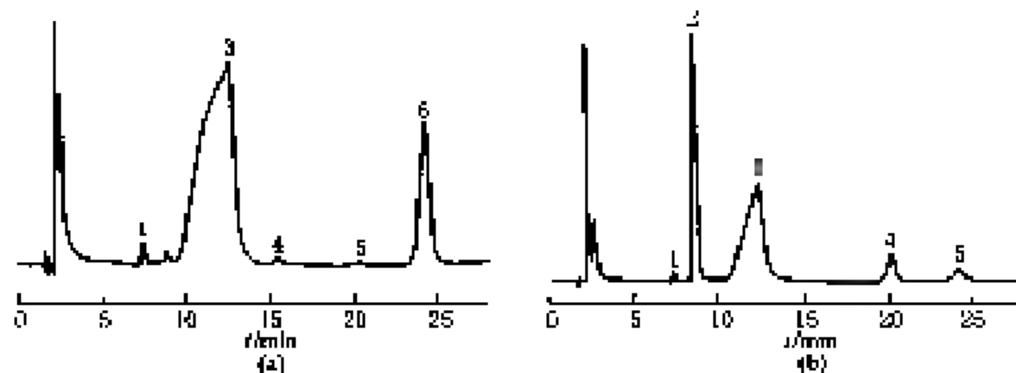


图 11-164　锅炉烟道气中 Cl^- 和含氧酸根离子色谱图[illegible]

(a) 第一吸收瓶；(b) 第二吸收瓶

色谱峰：1—Cl^-；2—NH_4；3—CO_3^{2-}；4—SO_3^{2-}；5—NO_3^-；6—SO_4^{2-}

色谱柱：IonPac AG7，IonPac AS7

流动相：20 mmol·L^{-1} NaOH＋10 mmol·L^{-1}对氰基苯酚

吸收溶液：5% TEA，每个 10ml

检测器：电导

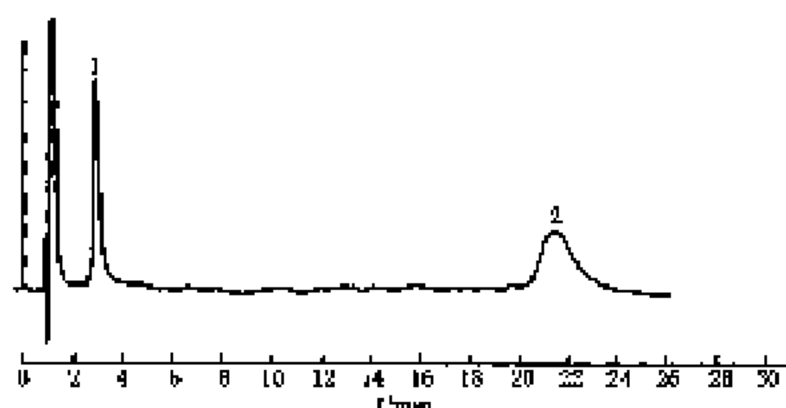


图 11-165 新固定相分析自来水的色谱图

色谱峰：1—Cl^-，2—SO_4^{2-}

色谱柱：填充PS-DVB三酸树脂，100 mm×4.6 mm

流动相：2.5 mmol·L^{-1}邻苯二甲酸氢钾（pH3.80）

检 测：电导



图 11-166 酸和阴离子分离色谱图

色谱峰：1—乙酸

色谱柱：Wescan Anion Exclusion，磺酸化聚苯乙烯，25.0 cm×7.1 mm（内径），10 μm

流动相：3 mmol·L^{-1} HNO_3 等度淋洗

流 速：1.0ml·min^{-1}

柱 温：室温

检测器：电导

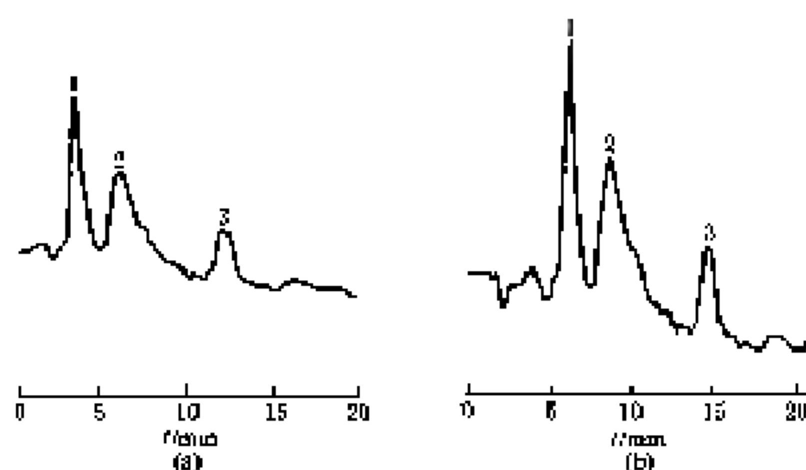


图 11-167 酸的离子作用色谱图

色谱峰：1—甲酸，2—乙酸，3—丙酸

色谱柱：spheri-10RP 18，100 mm×4.6 mm

流动相：0.3 mmol·L^{-1}异基磺水杨酸（pH5.5）

流 速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV (310 nm)；

(b) 带有氧化钨电极的电位检测器

第三节　其他样品的色谱图

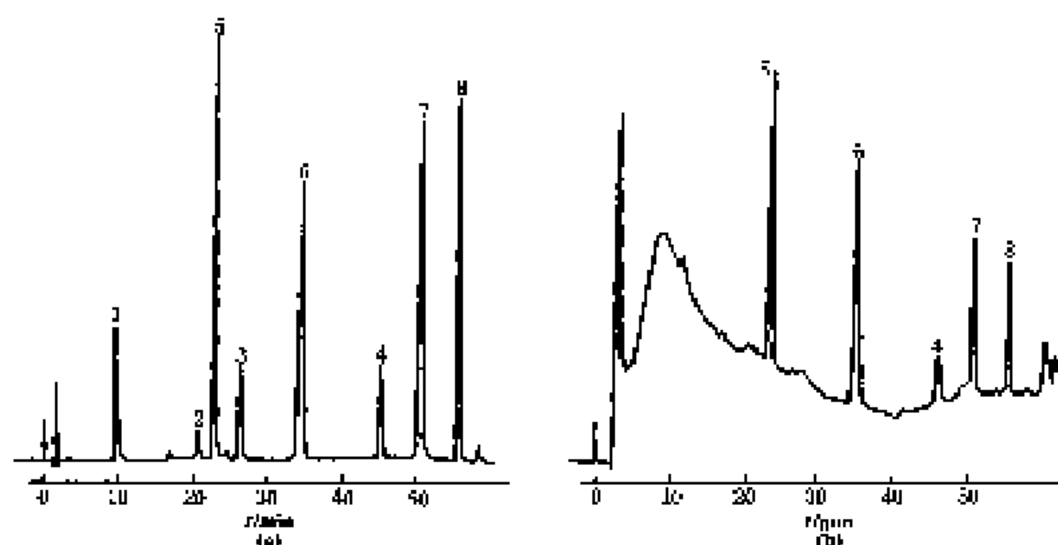


图 11-168　胺类化合物分离谱图[illegible]

(a) 氯化三嗪和四种苯胺衍生物谱图；(b) 掺杂胺类化合物的饮用水经富集后在线阳离子交换谱图

色谱峰　1—3-氯-4-甲氧苯胺；2—3-氯-4-甲苯胺；3—4-异丙基苯胺；4—3,4-二氯苯胺；5—S；6—A；7—P；8—T

色谱柱：填充 5 μm Nucleosil C_{18}，6 cm×0.46 cm（内径）

预浓缩柱：内填充 7 μm PRP-1（pH6），15 mm×3.2 mm（内径）

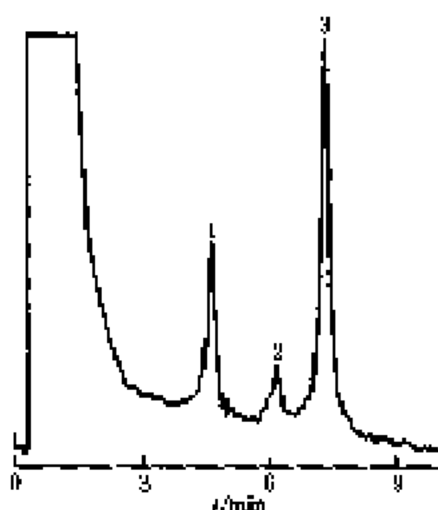
阳离子交换预处理柱：填充 15—20 μm BC X_8（用含 25%乙腈的 5ml pH1.0 高氯酸）10 mm×2 mm（内径）

流动相：0.05 mol·L^{-1}高氯酸+高氯酸锂（pH4）+乙腈

梯度冲洗：

时间/min	φ(乙腈)/%
0	15
20	23.5
35	25.4
60	46

检测器　UV（230 nm）



色谱峰：1—PCR 放大 HIV115-bp 片段；2—PCR 放大 HIV 100-bp；3—PCR 放大 HIV 127-bp 内标物

色谱柱：PS-DVB-C_{18}，50 mm×4.6 mm（内径），2.1 μm

柱　温：50℃

流动相：A 0.1 mol·L^{-1} TEAA pH7.0

B 0.1 mol·L^{-1} TEAA，25%乙腈 pH7.0

线性梯度冲洗：45%～55%B 10 min

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光检测（λ_{ex}=488 nm，λ_{em}=520 nm）

图 11-169　5-羧基荧光素标记 HIVPVR 产品的离子对色谱图[illegible]

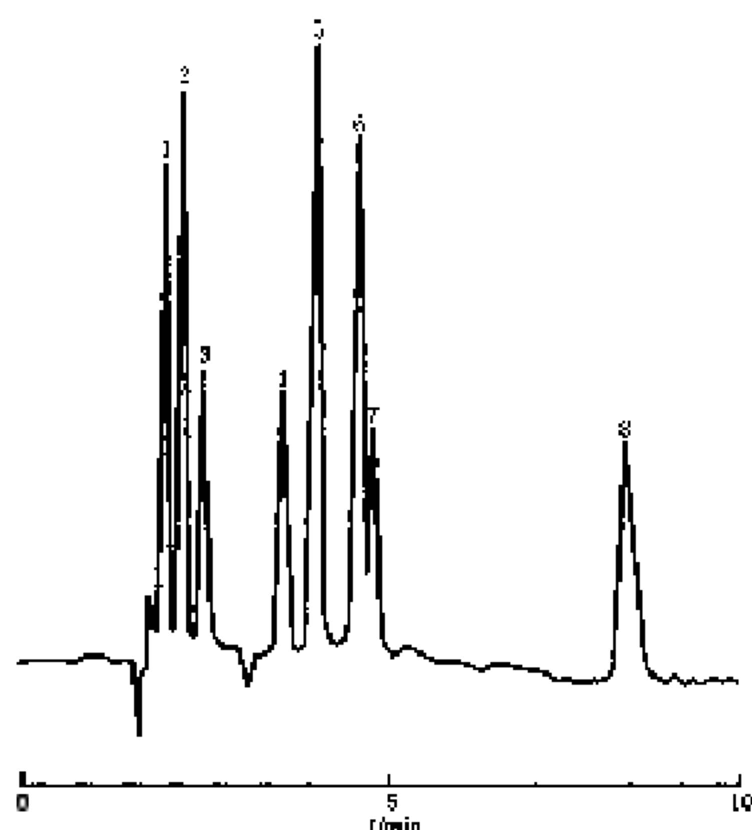


图 11-170　8种苯胺、萘胺磺酸分离色谱图

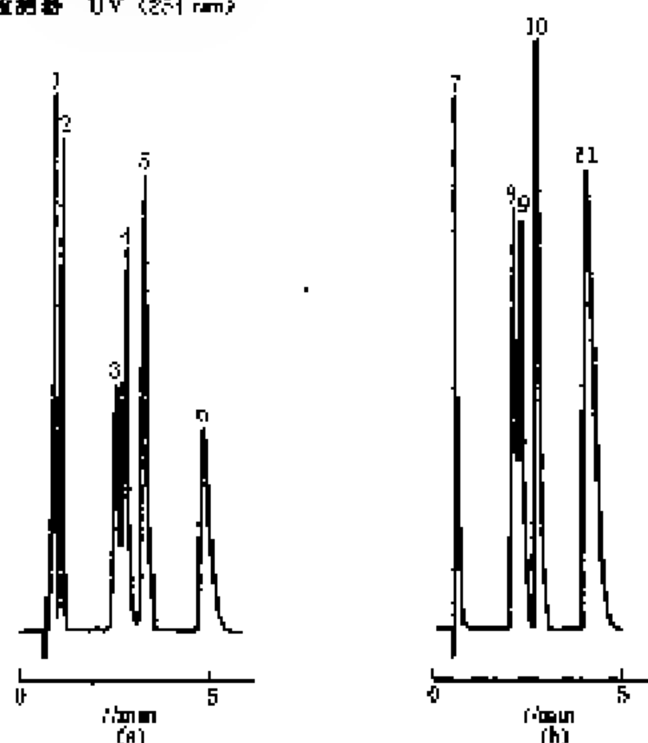
色谱峰：1—1-氨基苯-2,5-二磺酸；2—1,3-二氨基苯-4,6-二磺酸；3—1-氨基苯-3-磺酸；4—1-氨基苯-2-磺酸；5—2-氨基萘-3,6-二磺酸；6—1-氨基-4-甲苯-3-磺酸；7—1-氨基萘-5-磺酸；8—8-氨基萘-5-磺酸

色谱柱：填充 5 μm Spherisorb C_{18}载体，200 mm×4.0 mm（内径），5 μm

泵　Waters 510

流动相：溶剂 A 为甲醇，溶剂 B 为缓冲液，内含 10 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4，5 mmol·L^{-1} TBAI，0.5 mol·L^{-1} KCl，A—B（0.25+0.75，pH=6.97）

检测器　UV（254 nm）



色谱峰：1—乳酸(0.5 mmol·L^{-1})；2—氯化物；3—碳酸盐；4—酒石酸(0.25 mmol·L^{-1})；5—草酸(0.25 mmol·L^{-1})；6—富马酸(0.25 mmol·L^{-1})；7—乳酸(0.5 mmol·L^{-1})；8—丙二酸(0.25 mmol·L^{-1})；9—马来酸(0.25 mmol·L^{-1})；10—草酸(0.25 mmol·L^{-1})；11—富马酸(0.25 mmol·L^{-1})

固定相：IonPac AS4A-SC

流动相：(a) $[HCO_3^-]=[CO_3^{2-}]=6.0$ mmol·L^{-1}

(b) $[HCO_3^-]+[CO_3^{2-}]=2.5$ mmol·L^{-1}

检测器：电导

图 11-171　CO_3^{2-}浓度对酸性分析物分离的影响谱图

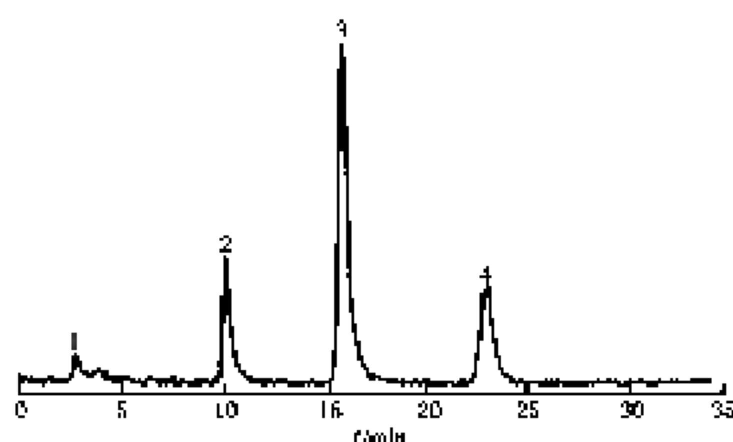


图 11-172　DNB 硒生化物标准样反相色谱图[8]

色谱峰：1—未知物；2—Se-甲基-DL-硒代胱氨酸；3—硒代蛋氨酸；4—Se-正丙基-DL-硒代胱氨酸

色谱柱：Perkin-Elmer Brownlee C_{18} PTC 柱，220 mm×2.1 mm（内径）

流动相：甲醇—水（62+38），内含 0.024% TFA

流　速：0.2 ml·min^{-1}

检测器：Perkin-Elmer Elan 5000 质谱仪

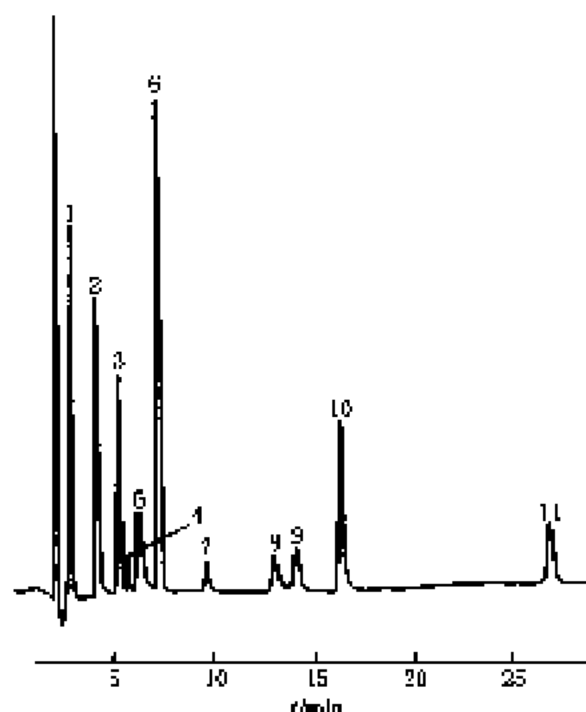


图 11-173　酚类混合物分离色谱图[9]

色谱峰：1—对硝基苯酚；2—2,4-二硝基苯酚；3—邻硝基苯酚；4—苯酚；5—2,4-二硝基-6-甲基苯酚；6—邻氯苯酚；7—2,4-二甲基苯酚；8—2,4,6-三氯苯酚；9—4-氯-3-甲基苯酚；10—2,4-二氯苯酚；11—2,4-二氯苯酚

色谱柱：Merck RP-18 LiChroCART 250-4，5 μm

流动相：8.0 mmol·L^{-1} 半胱磷酸盐溶液-乙腈（体积比=65∶35（pH8.0））

流　速：t=(0~7) min 时 F=1.0 ml·min^{-1}

t=(7~22) min 时 F=1.0 ml·min^{-1}→2.0 ml·min^{-1}

t>22 min 时 F=2.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（285 nm）

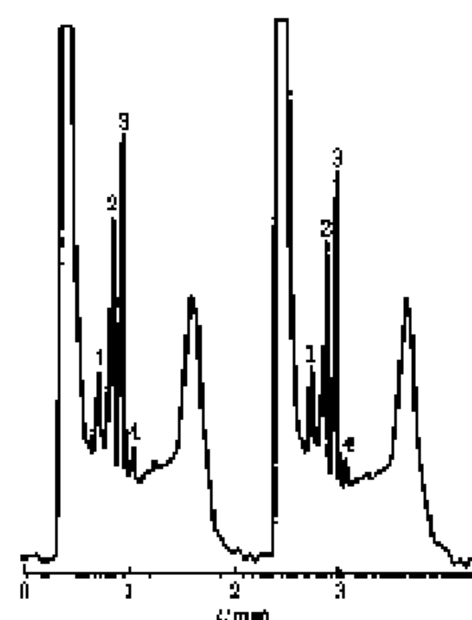


图 11-174　PCR 产品常规分析的快速分离以及柱再生色谱图[10]

色谱峰：1—非特殊 PCR 产品；2—120-bp PCR 产品；3—132-bp PCR 产品；4—147-bp PCR 产品

色谱柱：PS-DVB-C_{18}，50 mm×4.6 mm（内径），2.1 μm

柱　温：50℃

流动相：A 0.1 mol·L^{-1} TEAA，pH7.0

B 0.1 mol·L^{-1} TEAA，25%乙腈 pH7.0

梯度冲洗：45%B $\xrightarrow[\text{线性梯度}]{1\ \text{min}}$ 65%B，100%B 冲洗强结合力化合物 0.1 min；45%B 平衡冲洗 0.9 min

流　速：3 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

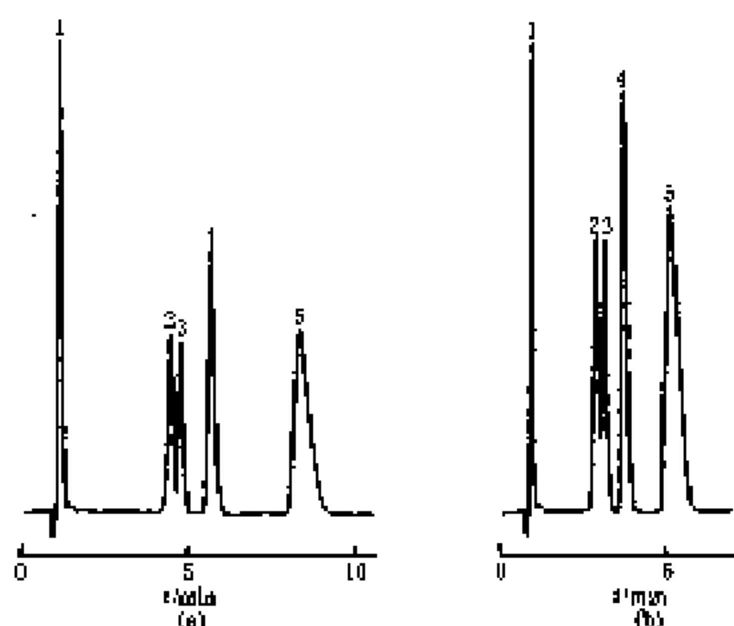


图 11-175　pH 对被分析物分离效果影响谱图[?]

色谱峰：1—乳酸(0.5 mmol·L⁻¹)；2—丙二酸(0.25 mmol·L⁻¹)；3—马来酸(0.25 mmol·L⁻¹)；4—草酸(0.25 mmol·L⁻¹)；5—富马酸(0.5 mmol·L⁻¹)

固定相：IonPac AS4A-SC，250 mm×4 mm（内径）

流动相：$[HCO_3^-]+[CO_3^{2-}]=7.5\ mmol\cdot L^{-1}$，(a) pH9.8；(b) pH10.1

检测器：电导

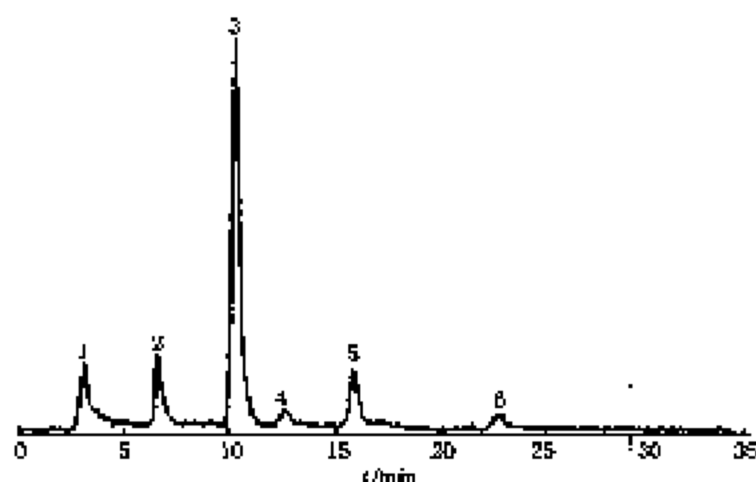


图 11-176　硒代氨基酸分离谱图[?]

色谱峰：1—未知；2—未知；3—Se-甲基-DL-硒代胱氨酸；4—未知；5—硒代蛋氨酸；6—Se-正丙基-DL-硒代蛋氨酸

色谱柱：Perkin-Elmer Brownlee C_{18} PTC柱，220 mm×2.1 mm（内径）

流动相：甲醇+水（体积比=62∶38），内含0.0024%TFA

流　速：0.8ml·min⁻¹

检测器：Perkin-Elmer Elan 6000 等离子耦合质谱仪

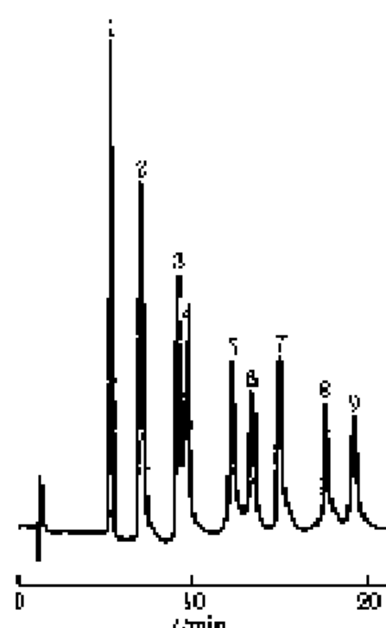


图 11-177 乙基苯胺和二甲基苯胺离子对色谱图[?]

色谱峰：1—2,6-二甲代苯胺；2—邻乙基苯胺；3—2,5-二甲代苯胺；4—2,3-二甲代苯胺；5—间乙基苯胺；6—2,4-二甲代苯胺；7—3,5-二甲代苯胺；8—对乙基苯胺；9—3,4-二甲代苯胺

色谱柱：填充 Develosil ODS 3，100 mm×4.6 mm（内径）

柱 温：25℃

流动相：甲醇+水（50+50 体积分数），用 0.7%乙酸调节 pH 至 4.8，离子对试剂为 2 mmol·L^{-1}十二烷基硫酸钠

流 速：1.0 ml·min^{-1}

进样压力：28.2 Pa·cm^{-2}

检测器：UV（254 nm）

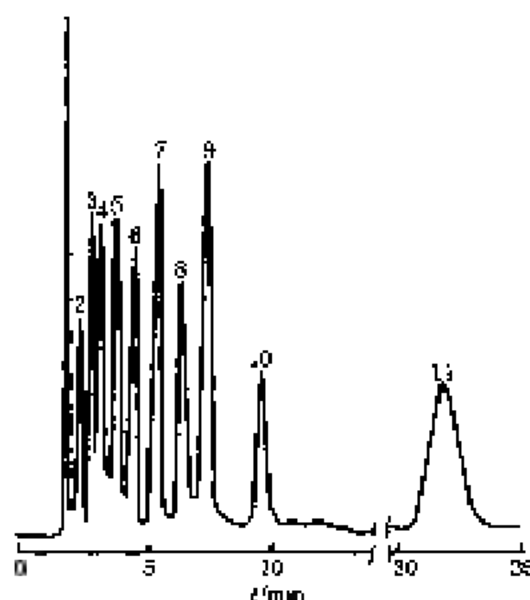


图 11-178 11 种苯胺磺酸和萘胺磺酸混合物色谱图[?]

色谱峰：1—苯胺-4-磺酸；2—苯胺-3-磺酸；3—苯胺-2,5-二磺酸；4—苯胺-2-磺酸；5—4-甲基苯胺-3-磺酸；6—2-氨萘-8-磺酸；7—2-氨萘-3,6-二磺酸；8—2-氨萘-5-磺酸；9—4-硝基苯胺-2-磺酸；10—2-氨萘-1-磺酸；11—萘胺-8-磺酸

色谱柱：填充 5 μm Spherisorb C_{18} 载体，200mm×4.0 mm（内径），5 μm

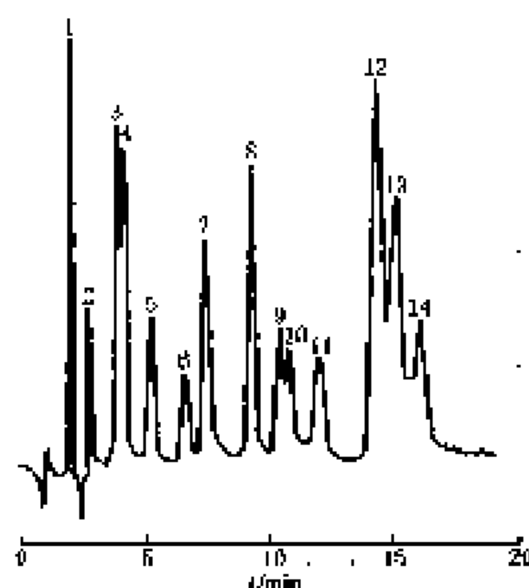
柱 温：室温

流动相：甲醇+磷酸盐缓冲液（0.281+0.719），内含 10 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4，离子对试剂 4 mmol·L^{-1}溴化四丁基铵（pH7.16）

泵：Waters model 510

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—苯胺-4-磺酸；2—苯胺-3-磺酸；3—苯胺-2,5-二磺酸；4—苯胺-2-磺酸；5—4-甲基苯胺-3-磺酸；6—萘胺-5-磺酸；7—2-氨萘-5-磺酸；8—2-氨萘-3,6-二磺酸；9—2-氨萘-6-磺酸；10—4-硝基苯胺-2-磺酸；11—4-甲基苯胺-2-磺酸；12—2-氨基萘-4,6,8-三磺酸；13—2-氨基萘-5,6,8-三磺酸；14—2-氨基萘-1-磺酸

色谱柱：填充 Spherisorb C_{18} 载体，200 mm×4.0 mm（内径），5 μm

柱 温：室温

流动相：甲醇+磷酸盐缓冲液（0.239+0.761），内含水量 10 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4 离子对试剂 4 mmol·L^{-1}溴化四丁基铵（pH7.16）

泵：Waters model 510

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

图 11-179 14 种苯胺磺酸和萘胺磺酸混合物色谱图[?]

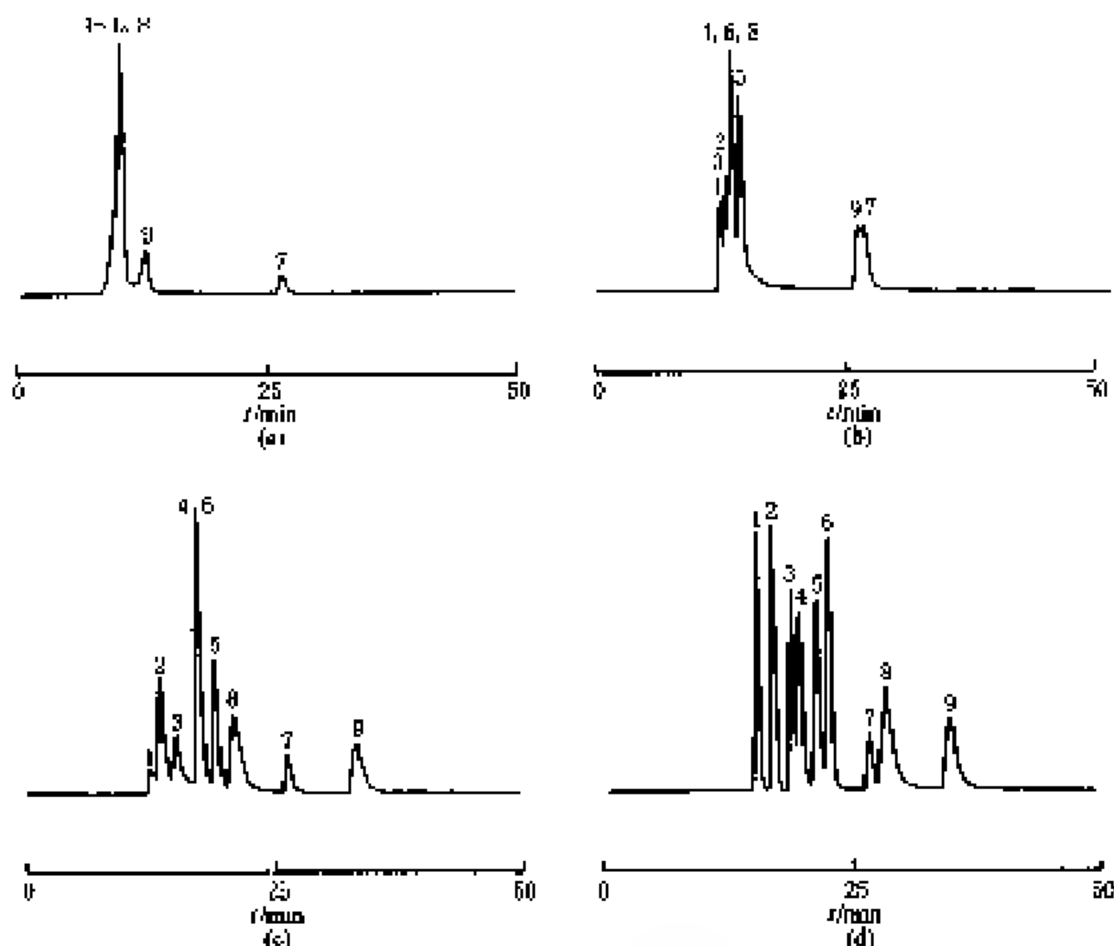


图 11-180 不同浓度流动相下苯甲酸和羧酸离子排阻色谱图

色谱峰：1—1,2,4,5-苯四酸；2—1,2,4-苯三酸；3—1,2,3-苯三酸；4—对苯二甲酸；5—间苯二甲酸；6—邻苯二甲酸；7—苯酚；8—水杨酸；9—苯甲酸

色谱柱：2根 Develosil 30-5，300 mm×7.8 mm（内径）

柱　温：35℃

流动相：(a) 水；(b) 0.05 mmol·L^{-1} H_2SO_4；(c) 0.5 mmol·L^{-1} H_2SO_4；(d) 5 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (200 nm)

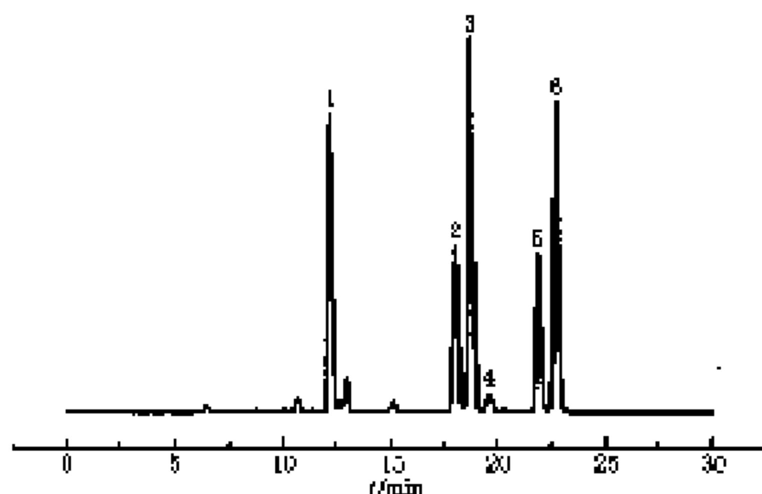


图 11-181 与OPA衍生化后的蛋氨酸片段的分离谱图

色谱峰：1—Tyr；2—Met；3—Val；4—Phe；5—Leu；6—Ile

色谱柱：Chromabond SA，250 mm×10 mm（内径）

流动相：0.01 mol·L^{-1}乙酸（pH2.8）—0.02 mol·L^{-1}甲酸（pH5.5）（体积比=1:1）

流　速：6.0 ml·min^{-1}

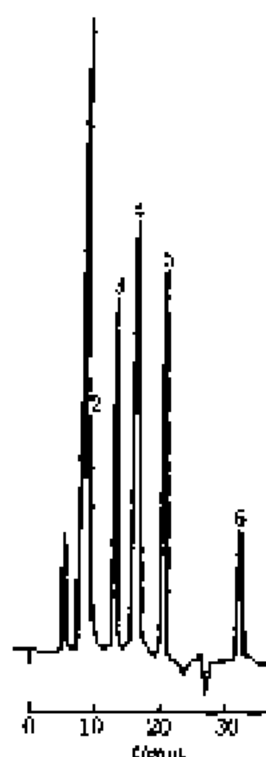


图 11-182　6 种含砷样品离子对的反相色谱分离谱图[80]

色谱峰：1—亚砷酸盐；2—偶砷甜菜碱；3—DMA；4—MMA；5—砷胆碱；6—砷酸盐

色谱柱：填充 C_{18}（Partial ODS3，250 mm×4.6 mm（内径），5μm

柱　温：25℃

流动相：5 mmol·L^{-1}羟基四丁胺＋水（pH=7.3）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

进样量：20 μl

样品浓度：100 μg·L^{-1}

检测器：UV（190 nm）



图 11-183　一、二、三磺酸化(S,S)-2,4-双（二苯膦）戊烷氧化物分离色谱图[84]

色谱峰：1—一磺酸化物；2—二磺酸化物；3—三磺酸化物

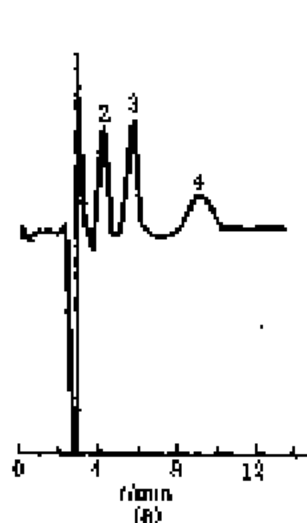
色谱柱：填充 Hypersil SAS（C1-键），250 mm×4.6 mm（内径）

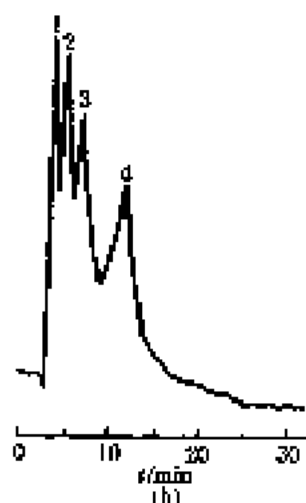
柱　温：室温

流动相：水＋丙醇（5＋2），27 mmol·L^{-1}溴化四丁基铵

流　速：0.6 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）





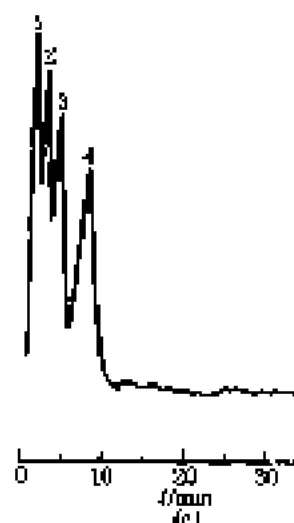


图 11-184　用不同检测器得到酸的反相色谱图[illegible]

色谱峰：1—甲酸；2—乙酸；3—丙酸；4—丁酸

色谱柱：polypore H，100 mm×4.6 mm

流动相：0.3 mmol·L^{-1}七氟丁酸水溶液（pH3.5）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV（210 nm）；

(b) 氧化钨电极；

(c) 铂电极

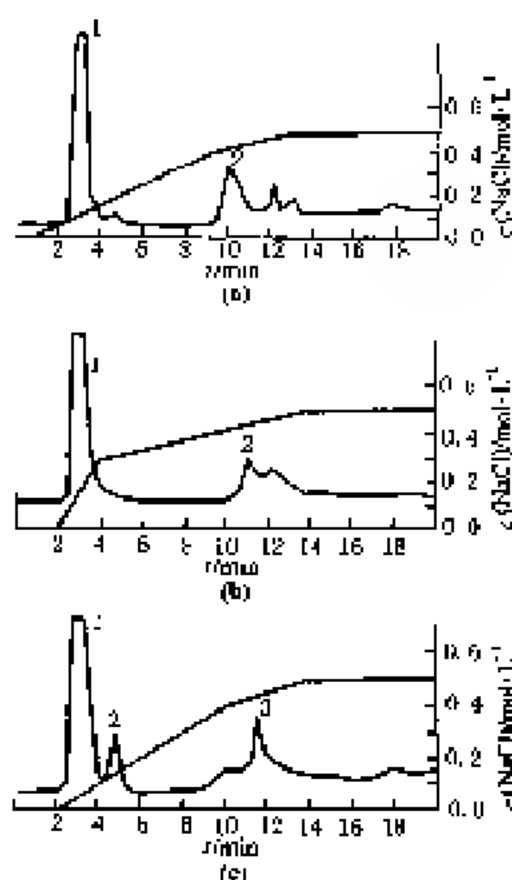


图 11-185　绿脓杆菌外膜蛋白 DEAE 离子交换色谱图[16]

色谱峰　(a) 1—含有外膜蛋白 E、G 和 H；2—含有外膜蛋白 C、D 和 F
　　(b) 1—含有外膜蛋白 G 和 H；2—外膜蛋白 E
　　(c) 1—外膜蛋白 D；2—外膜蛋白 C；3—外膜蛋白 F

色谱柱：TSK gel-DEAE 5PW　75 mm×7.5 mm

流动相：Tris-HCl 缓冲液 (pH8.0)；0～0.5 mol·L^{-1} NaCl 梯度洗脱

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (280 nm)

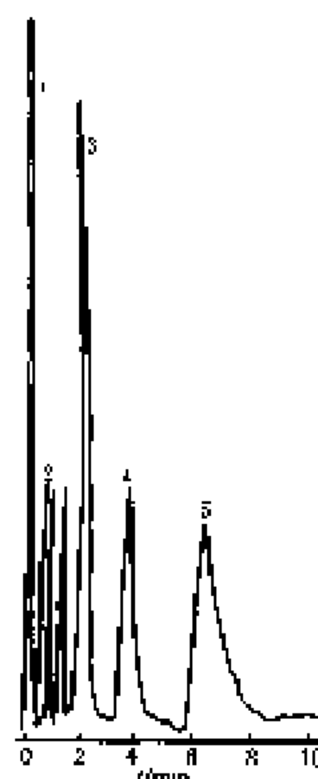


图 11-186　甲基胺分离色谱图[16]

色谱峰：1—Na^+；2—NH_4^+；3—甲基胺(10 mg·L^{-1})；4—二甲基胺(10 mg·L^{-1})；5—三甲基胺(20 mg·L^{-1})

色谱柱：硅胶阳离子交换柱，50 mm×4.6 mm (内径)

泵：Perkin Elmer LC-10

进样器：Model 7125

流动相：4 mmol·L^{-1} 氨基磺酸

流　速：3 ml·min^{-1}

检测器：电导，Perkin Elmer LC-21



色谱峰：1—鸟嘌呤核苷；2—3'-二氧磷基-2-甲基咪唑鸟嘌呤核苷；3—5'-二氧磷基鸟嘌呤核苷

色谱柱：HEMA-IEC BIO Q (Alltech)，25.0 cm×4.6mm (内径)，10 μm

流动相：A：2 mmol·L^{-1} Tris-$HClO_4$ (pH12)；B：2 mmol·L^{-1} Tris-$HClO_4$ (pH12) +0.4 mol·L^{-1} $NaClO_4$

梯度冲洗：2% $\xrightarrow{15\ min}$ 30%B $\xrightarrow{97.5\ min}$ 100%B

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV (254 nm)

图 11-187　鸟苷和单体衍生物离子交换色谱图[16]

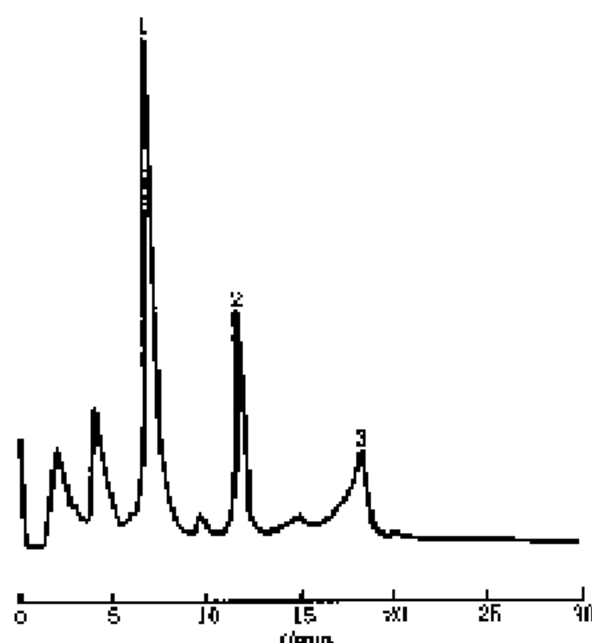


图 11-188 在 ProtEx-DEAE 固定相上人类血红蛋白变体分离色谱图[8]

色谱峰：1—Hb A_1(10 μg)；2—Hb S(10 μg)；3—Hb Ao(10 μg)
色谱柱：protEX-DEAE
柱　温：25℃
流动相：A 20 mmol·L^{-1} Tris-HCl (pH8.2)
　　　　B 溶剂 A+0.5 mol·L^{-1} NaCl
　　　　0~10%B 梯度冲洗 30min
流　速：0.5 ml·min^{-1}
检测器：UV (280 nm)

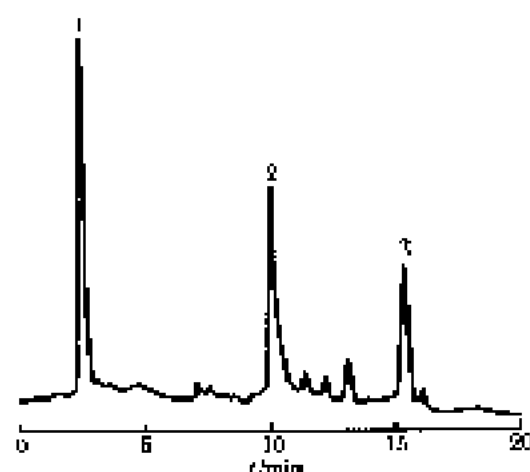


图 11-189 在 ProtEx-DEAE 固定相上标准蛋白质混合物分离色谱图[8]

色谱峰：1—肌红蛋白 (1 μg)；2—伴清蛋白 (1 μg)；3—胰蛋白酶抑制剂 (2 μg)
色谱柱：ProtEX-DEAE
柱　温：25℃
流动相：A 20 mmol·L^{-1} Tris-HCl (pH8.2)
　　　　B 溶剂 A+0.5 mol·L^{-1} NaCl
　　　　0~100%B 梯度冲洗 20 min
流　速：0.5 ml·min^{-1}
检测器：UV (280 nm)

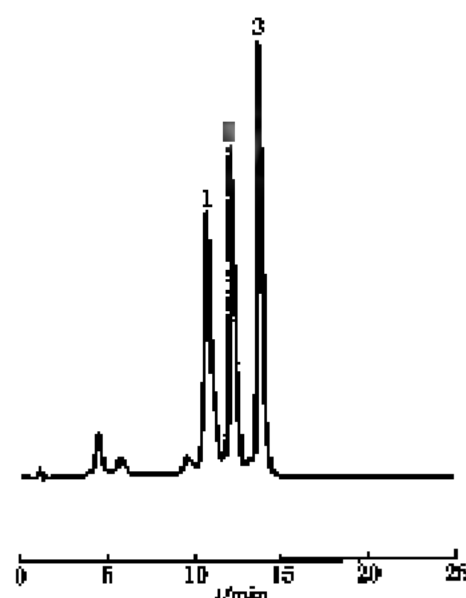


图 11-190 在 ProtEx-SP 固定相上细胞色素 C 物种变异体离析色谱图[8]

色谱峰：1—牛细胞色素 C 变异体(10 μg)；2—马细胞色素 C 变异体(10 μg)；3—兔细胞色素 C 变异体(10 μg)
色谱柱：protEX-SP
柱　温：25℃
流动相：A 20 mmol·L^{-1} Bis-Tris-HCl (pH7.0)
　　　　B 溶剂 A+0.5 mol·L^{-1} NaCl
　　　　(24~69)%B 梯度冲洗 20 min 以上
流　速：0.5 ml·min^{-1}
检测器：UV (280 nm)

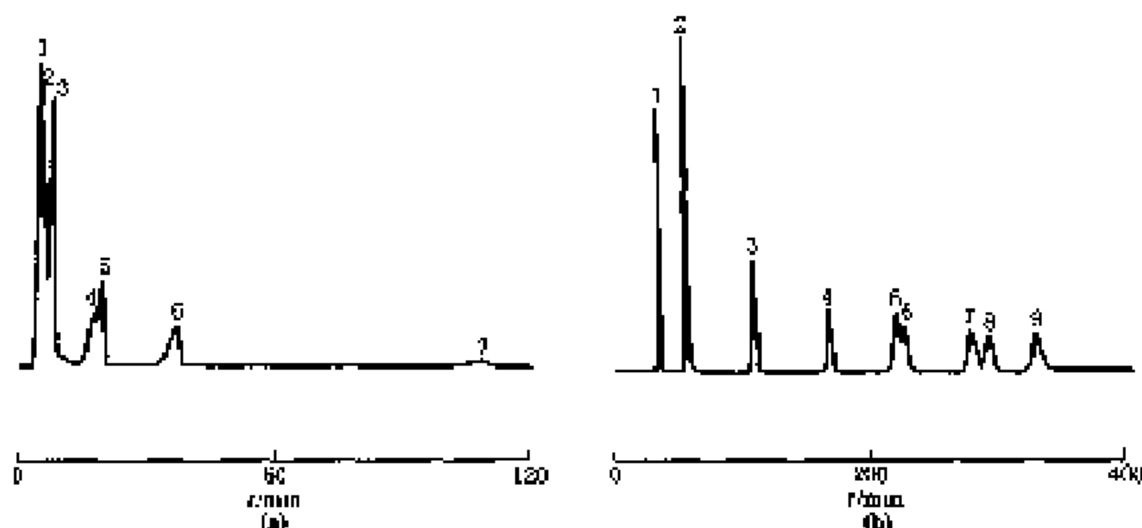


图 11-191　在 Tskgel OA-PakA 柱上离子排斥苯甲酸和苯酚的色谱图[96]

色谱峰：(a) 1~3—1,2,4,5-苯四酸；1,3,5-苯三酸；1,2,4-苯三酸；1,2,3-苯三酸；邻苯二甲酸；间苯二甲酸；水杨酸；4—苯甲酸；5—间羟基苯甲酸；6—对羟基苯甲酸；7—苯酚

(b) 1—1,2,3-苯三甲酸；2—1,2,4,5-苯四酸和邻苯二甲酸；3—1,2,4-苯三酸和苯酚；4—苯甲酸；5—间羟基苯甲酸；6—对羟基苯甲酸；7—间苯二甲酸；8—对苯二甲酸；9—1,2,3-苯三酚

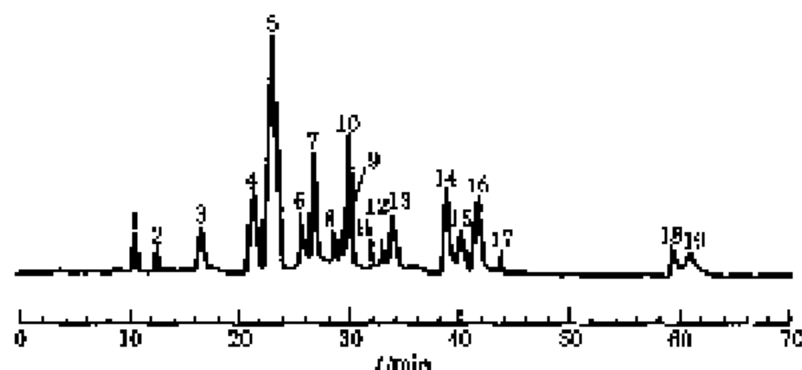
色谱柱：TSKgel OA-Pak A，300 mm×7.8 mm（内径）

柱　温：35℃

流动相：(a) 水；(b) 5 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (200nm)



色谱峰：1—天冬氨酸；2—丝氨酸；3—谷氨酸；4—甘氨酸；5—丙氨酸；6—未知；7—缬氨酸；8—蛋氨酸；9—异亮氨酸；10—亮氨酸；11—未知；12—酪氨酸；13—苯丙氨酸；14—未知；15—赖氨酸；16—NH_3；17—精氨酸；18，19—残留的不溶物

图 11-192　污水中过滤物氨基酸含量色谱图[97]

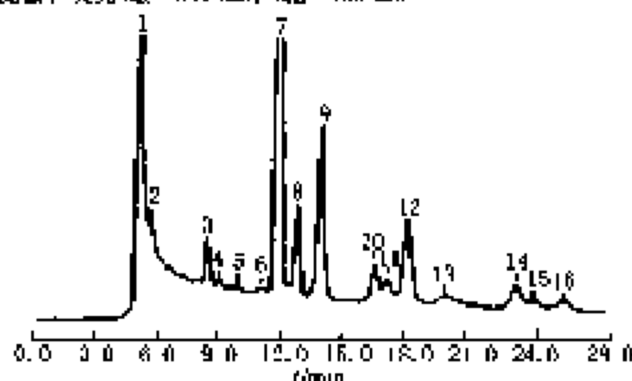
色谱柱：阳离子交换柱（Pickering）

流动相：Pickering 缓冲液（pH=3.15~7.4）和 0.2 mol·L^{-1} NaOH

柱　温：50℃

流　速：0.4 ml·min^{-1}

检测器：荧光 $\lambda_{ex}=340$ nm，$\lambda_{em}=455$ nm



色谱峰：1—空白体积；2—草酸；3—丙酮酸；4—乙醛酸；5—甘油酸；6—未知；7—乳酸；8—富马酸；9—乙酸；10—丙酸；11，12—未知物；13—丁酸；14—异戊酸；15，16—未知物

色谱柱：Merck Polyspher OA-HY

柱　温：45℃

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV (210 nm)

图 11-193　有机酸分离色谱图（　）[67]

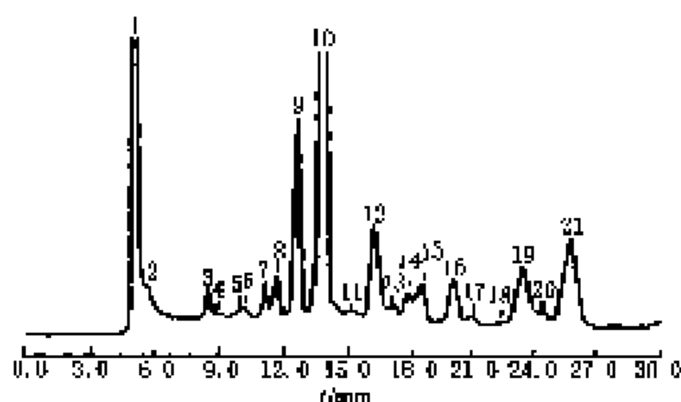


图 11-194 有机酸分离色谱图（二）[27]

色谱峰：1—空白体积；2—草酸；3—丙酮酸；4—乙醛酸；5—未知物；6—甘油酸；7—琥珀酸；8—乙醇酸+乳酸；9—富马酸+戊二酸；10—乙酸；11—己二酸；12—丙酸；13，14—未知；15—异丁酸；16—丁酸；17，18—不知；19—异戊酸；20，21—未知物

色谱柱：Merck Polyspher OA-HY　　流速：0.5 ml·min^{-1}

柱温：45℃　　检测器：UV（210 nm）

流动相：5 mmol·L^{-1} H_2SO_4

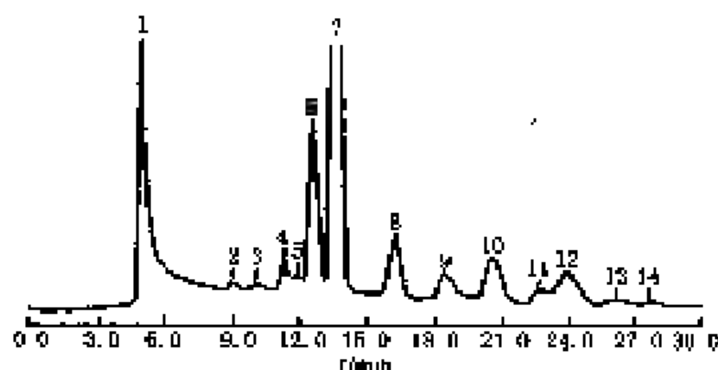


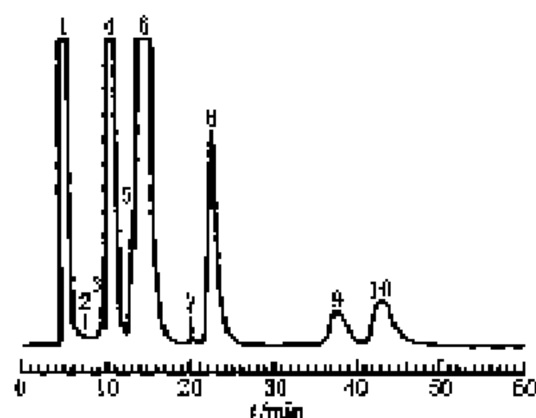
图 11-195 有机酸分离色谱图（三）[27]

色谱峰：1—空白体积；2—丙酮酸；3—甘油酸；4—乙醇酸+乳酸；5—琥珀酸；6—富马酸；7—乙酸；8—丙酸；9—异丁酸；10—丁酸；11—未知物；12—异戊酸；13，14—未知物

色谱柱：Merck Polyspher OA-HY　　流速：0.5 ml·min^{-1}

柱温：40℃　　检测器：UV（210 nm）

流动相：50 mmol·L^{-1} H_2SO_4



色谱峰：1—空白体积；2—未知；3—乙醇酸；4—富马酸；5—琥珀酸；6—乙酸；7—戊二酸；8—丙酸；9—异丁酸；10—丁酸

色谱柱：Dionex IonPac HPICE-AS6

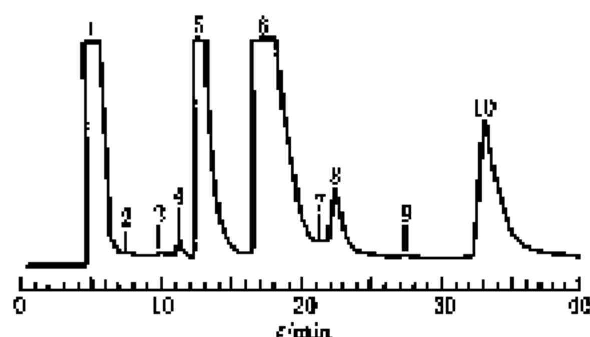
柱温：60℃

流动相：全氟丁酸（0.4 mmol·L^{-1}）

流速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（210 nm）

图 11-196 有机酸分离色谱图（四）[29]



色谱峰：1—空白体积；2—丙酮酸；3—甘油酸；4—乙醇酸；5—富马酸+乳酸；6—乙酸；7—琥珀酸；8—未知物；9—未知物；10—丙酸
色谱柱：Dionex IonPac HPICE-AS6
柱 温：10℃
流动相：1.6 mmol·L⁻¹全氟丁酸
流 速：1 ml·min⁻¹
检测器：电导

图 11-197 有机酸分离色谱图（五）[illegible]

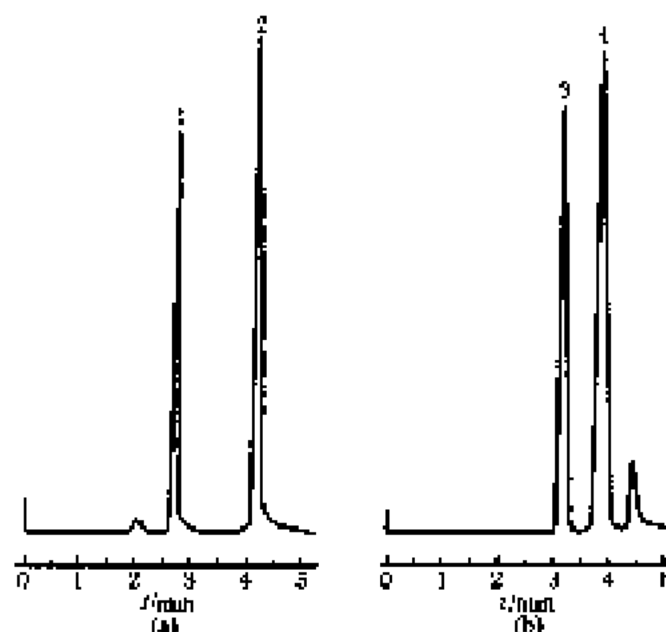
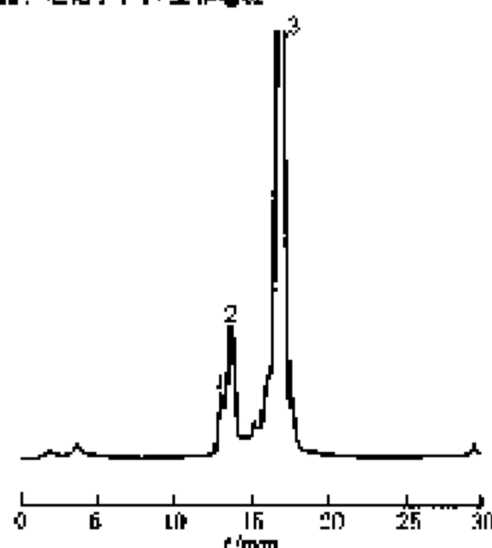


图 11-198 阳离子交换树脂反相色谱分析头孢抗菌素和己二醇类化合物谱图[illegible]

色谱峰：1—对甲苯磺酸，2—头孢唑啉，3—1,6-己二醇，4—1,4-环己二醇
色谱柱：OmniPAC PCX-500
流动相：A 15%~67.5%乙腈，B 30 mmol·L⁻¹ $HClO_4$
线性洗脱：20%A 5 min，(5~14) min线性梯度冲洗至95%A，14.5 min平衡冲洗
流 速：0.8 ml·min⁻¹
检测器：电化学，Pt工作电极



色谱峰：1,2—GHb Ac；3—Hb Ao
固定相：ProtEX-SP
柱 温：25℃
流动相：A 30 mmol·L⁻¹ Bis-Tris-HCl (pH6.0)
B A+0.5 mol·L⁻¹ NaCl
(7~40)%B梯度冲洗20 min
流 速：0.5 ml·min⁻¹
检测器：UV (280 nm)

图 11-199 血红蛋白类化合物分离色谱图[illegible]

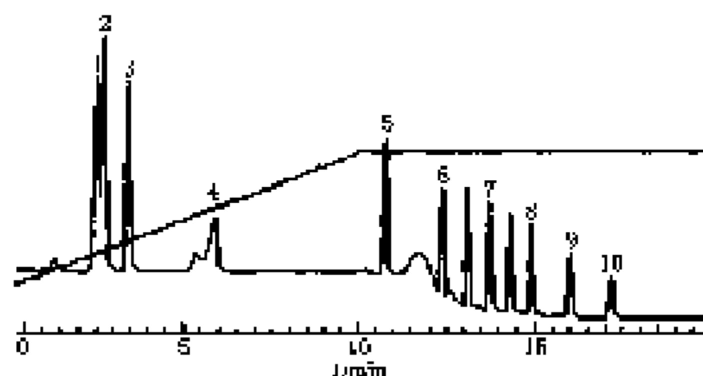


图 11-206　直链烷烃磺酸盐标准物甲基磺酸盐（C_1）到十四烷基磺酸盐（C_{14}）色谱图

色谱峰：1—C_1；2—C_2；3—C_3；4—C_4；5—C_6；6—C_8；7—C_{10}；8—C_{11}；9—C_{12}；10—C_{14}

色谱柱：Novapak C_{18}

流动相：溶剂A为0.5 mmol·L^{-1} TBAB，溶剂B为0.5 mmol·L^{-1} TBAB/乙腈，溶剂A+溶剂B（体积比=85∶15）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：电导

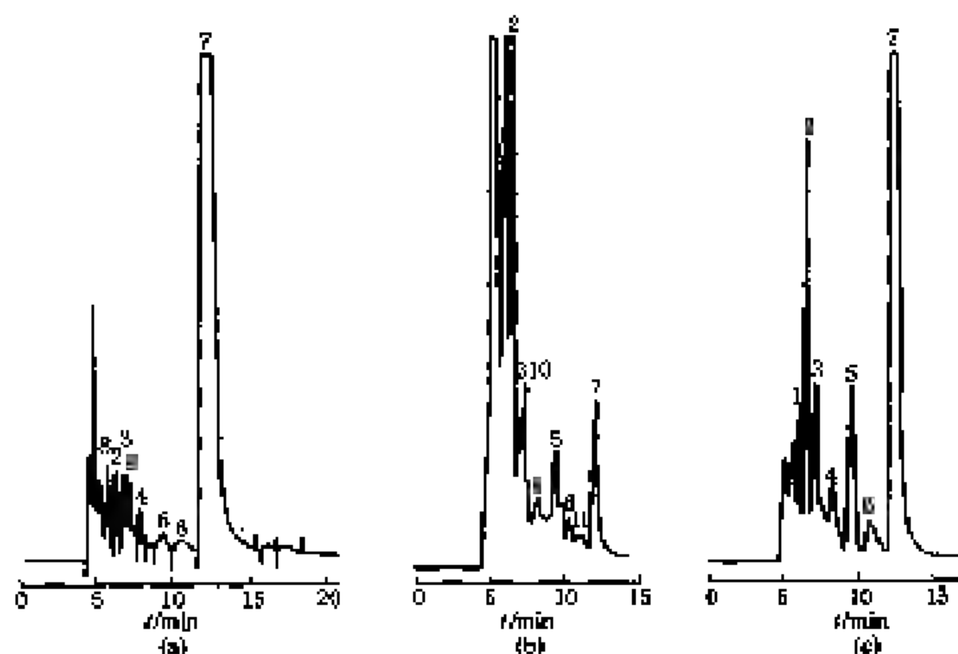


图 11-207　树皮渗出液（a）、木质树叶（b）和根组织萃取液（c）色谱图

色谱峰：1—奎尼酸；2—苹果酸；3—丙二酸；4—马来酸；5—柠檬酸；6—琥珀酸；7—富马酸；8—酒石酸；9—莽草酸；10—丙酮酸；11—顺-乌头酸

色谱柱：ODS-220 mm×4.6 mm（内径）和多孔H柱100 mm×4.6 mm（内径）多孔H柱填充磺化聚苯乙烯-二乙烯基苯树脂 ODS-C-18键合硅胶孔状球形颗粒 5 μm

保护柱：ODS Spheri-7 滤芯，15 mm×3.2 mm（内径）

多孔H保护柱：30 mm×4.6 mm（内径）

流动相：H_2SO_4（pH2.10）

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：分光光度

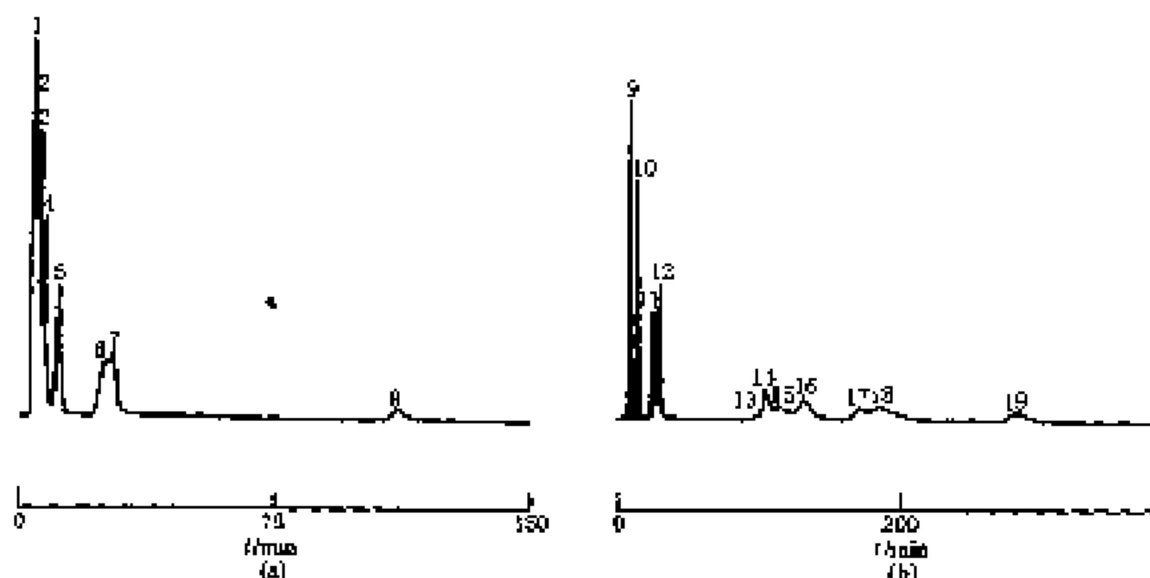


图 11-202 苯甲酸和苯酚离子排阻色谱图[34]

色谱峰：1—1,2,4,5-苯四酸；1,2,3-苯三甲酸；1,2,4-苯三酸；1,3,5-苯三酸；邻苯二甲酸；2—对苯二甲酸；3—间苯二甲酸；4—水杨酸；5—间羟基苯甲酸；6—对羟基苯甲酸；7—苯甲酸；8—苯酚；9—1,2,4,5-苯四酸；10—1,2,3-苯三甲酸；11—1,2,4-苯三酸；12—邻苯二甲酸；13—1,3,5-苯三酸；14—间羟基苯甲酸；15—苯酚；16—对羟基苯甲酸；17—对苯二甲酸；18—间苯二甲酸；19—苯甲酸

色谱柱：TSKgel SCX，300 mm×7.8 mm（内径）

流动相：(a) 水；(b) 5 mmol·L⁻¹ H_2SO_4

柱 温：30℃

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV (200 nm)

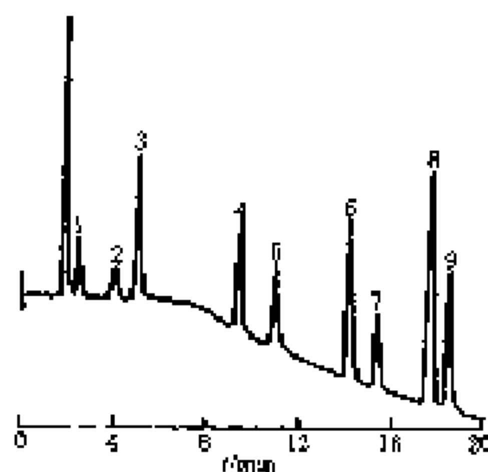


图 11-203 表面活性剂离子色谱图[1]

色谱峰：1—磺酸盐 C_6(5 mg·L⁻¹)；2—硫化 C_6(5 mg·L⁻¹)；3—硫化 C_7(10 mg·L⁻¹)；4—硫化 C_8(30 mg·L⁻¹)；5—磺酸盐 C_{10}(20 mg·L⁻¹)；6—硫化 C_{10}(20 mg·L⁻¹)；7—磺酸盐 C_{11}(50 mg·L⁻¹)；8—硫化 C_{12}(50 mg·L⁻¹)；9—磺酸盐 C_{12}(40 mg·L⁻¹)

色谱柱：Alltech Surfactant/R，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A 10 mmol·L⁻¹ LiOH

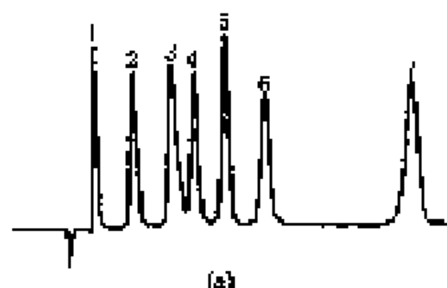
B 乙腈＋水＋甲醇（体积比＝60∶20∶20）

梯度淋洗：

时间/min	A	B	时间/min	A	B
0	97	3	10	80	20
3	97	3	20	50	50

流 速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：抑制电导



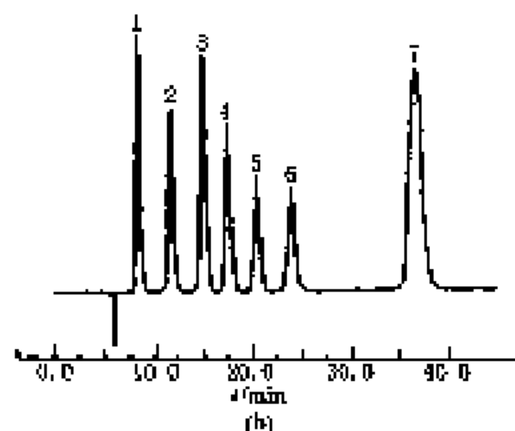


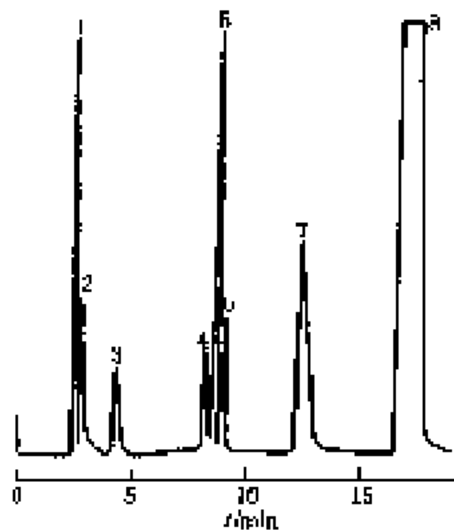
图 11-204 糖类化合物分离色谱图[90]

色谱峰：1—肌醇；2—木糖醇；3—D-山梨醇；4—D-甘露糖醇；5—D-葡萄糖；6—D-果糖；7—蔗糖

色谱柱：CarboPac MA1 (Dionex) 阴离子交换柱，250 mm×4 mm（内径）

流动相：(a) 0.50 mol·L⁻¹ NaOH；(b) 0.5 mol·L⁻¹ NaOH ＋0.5 mmol·L⁻¹ $Ca(OH)_2$

检测器：电化学检测



色谱峰：1—HyP；2—Xan；3—尿酸；4—Ade；5—Ino；6—Guo；7—Ado；8—AMP

色谱柱：Nova-Pak C_{18}柱，100 mm×8 mm，5 μm微粒

流动相：50 mmol·L^{-1} KH_2PO_4 (pH5.1)；2 mmol·L^{-1} PIC试剂A；2%乙腈

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV (254 nm)；(b) 放射

图 11-205　核苷降解物的离子对反相色谱图[94]

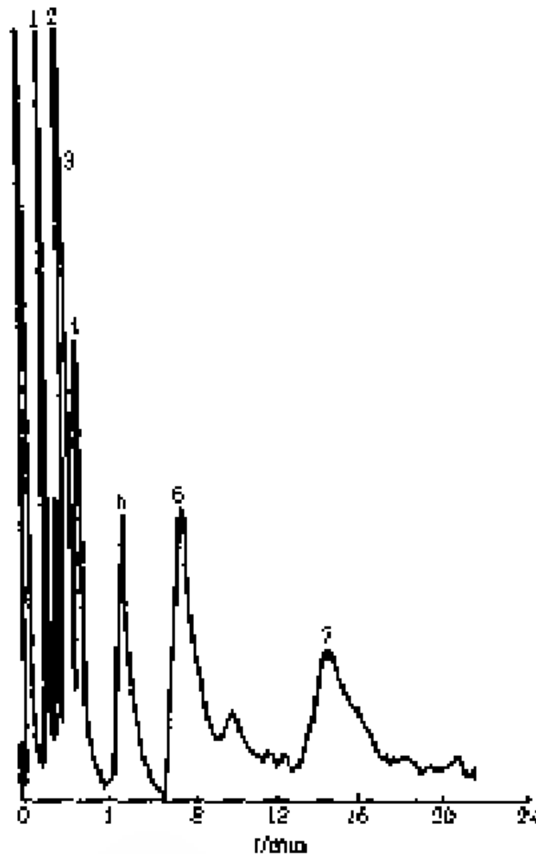


图 11-206　胺类化合物分离色谱图[94]

色谱峰：1—羟胺(5 mg·L^{-1})；2—乙醇胺(10 mg·L^{-1})；3—甲基胺(5 mg·L^{-1})；4—二甲胺(5 mg·L^{-1})；5—异丙醇胺(10 mg·L^{-1})；6—三甲基胺(5 mg·L^{-1})；7—二乙醇胺(20 mg·L^{-1})

色谱柱：阳离子交换柱，50 mm×4.6 mm (内径)，

泵：Perkin Elmer LC 10

进样器：Model 7125

流动相：4 mmol·L^{-1}氨基磺酸

流　速：3 ml·min^{-1}

检测器：电导，Perkin Elmer LC-21

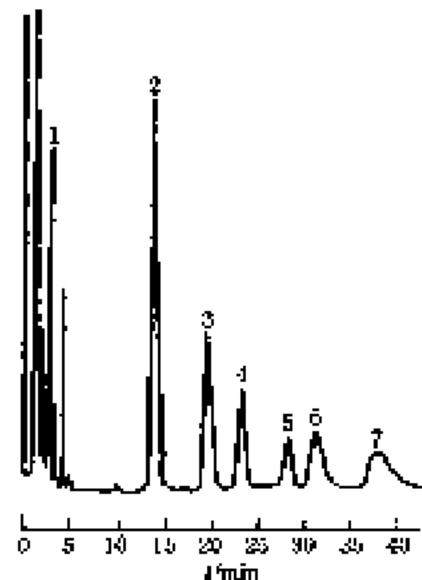


图 11-207　速溶咖啡中碳水化合物色谱图[94]

色谱峰：1—甘露糖醇(81 mg·L^{-1})；2—阿拉伯糖(140 mg·L^{-1})；3—半乳糖(78 mg·L^{-1})；4—葡萄糖(24 mg·L^{-1})；5—木糖(86 mg·L^{-1})；6—甘露糖(51 mg·L^{-1})；7—果糖(93 mg·L^{-1})

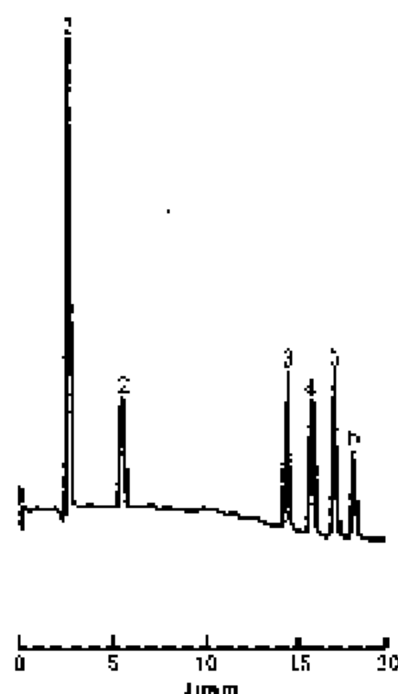
色谱柱：250 mm×4 mm 阴离子交换柱，填充 Dionex CarboPac PA_1

流动相：15 mmol·L^{-1} NaOH；去离子水

0 min $\xrightarrow{10\ mmol \cdot L^{-1}\ NaOH}$ 1 min $\xrightarrow{去离子水}$ 结束

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：脉冲安培检测计



色谱峰：1—四甲基胺(20 mg·L⁻¹)、四乙基胺(20 mg·L⁻¹)；2—四丙基胺(20 mg·L⁻¹)；3—四丁基胺(20 mg·L⁻¹)；4—十二烷基三甲基胺(30 mg·L⁻¹)；5—十六烷基三甲基胺(40 mg·L⁻¹)；6—十四烷基、二甲基胺(50 mg·L⁻¹)

色谱柱：Surfactant/R，150 mm×4.0 mm（内径）（P/N，35100）

流动相：A 2 mmol·L⁻¹九氟戊酸
B 100%乙腈

梯度洗脱

时间/min	φ/%	
	A	B
0	70	30
5	70	30
8	65	35
20	20	80

流 速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：抑制电导

图 11-208 梯度分离长、短链阳离子表面活性剂色谱图[3]

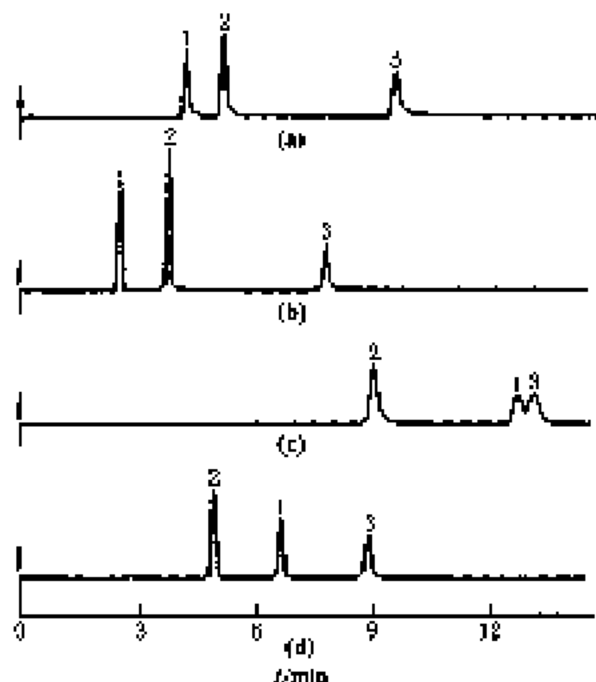


图 11-209 阿苯达唑类药物分离谱图（一）[94]

色谱峰：1—氧化阿苯达唑；2—砜基阿苯达唑；3—2-胺基阿苯达唑

色谱柱：Nucleosil 100 C_{18}，5 μm

柱 温：30℃

流动相：(a) 乙腈-0.05mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH2.5)（体积比=25：75）内不含有离子对；
(b) 有2.5 mmol·L⁻¹四丁基胺；(c) 有5 mmol·L⁻¹辛烷基磺酸；
(d) 2.5 mmol·L⁻¹四丁基胺+5 mmol·L⁻¹辛烷基磺酸

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（292 nm）

[illegible]：5 ml·min⁻¹

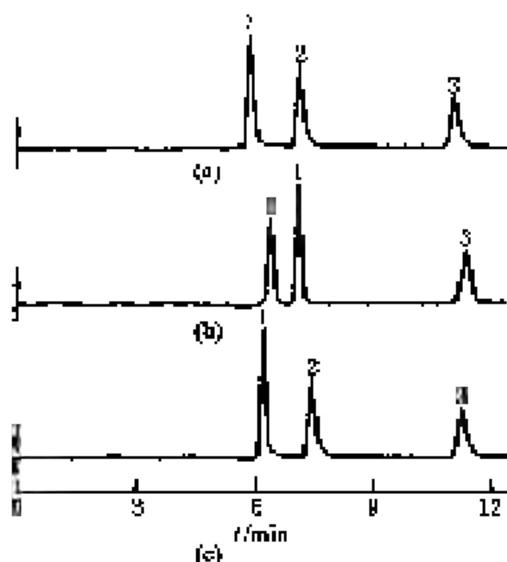


图 11-210 阿苯达唑类药物分离谱图（二）[95]

色谱峰：1—氧化阿苯达唑；2—砜基阿苯达唑；3—2-胺基阿苯达唑

流动相：(a) 乙腈+0.01 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH7.4)（体积比=25：75）内不含有离子对；
(b) 有10 mmol·L⁻¹四丁基胺；(c) 有10 mmol·L⁻¹辛烷基磺酸

色谱柱：Nucleosil 100，C_{18}，5 μm

柱 温：30℃

流 速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（292 nm）

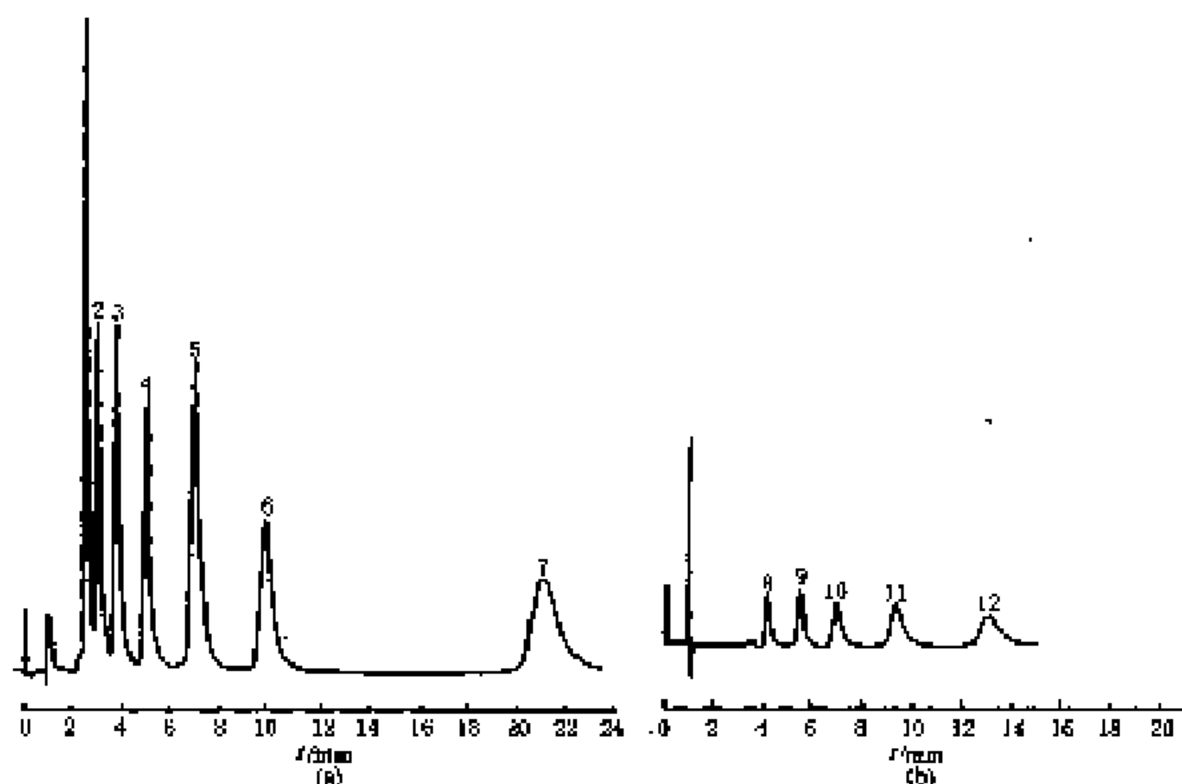


图 11-211 烷基苯酚和烷基苯分离色谱图[?]

色谱峰：1—苯酚(2.0 mg·L^{-1})；2—对甲基苯酚(10 mg·L^{-1})；3—4-乙基苯酚(10 mg·L^{-1})；4—4-正丙基苯酚(8.0 mg·L^{-1})；5—4-正丁基苯酚(15 mg·L^{-1})；6—4-戊基苯酚(20 mg·L^{-1})；7—4-庚基苯酚(26 mg·L^{-1})；8—苯(35 mg·L^{-1})；9—甲苯(45 mg·L^{-1})；10—乙苯(45 mg·L^{-1})；11—丙苯(60 mg·L^{-1})；12—丁苯(60 mg·L^{-1})

色谱柱：填充 PS-DVB 共聚树脂，200 mm×4.6 mm

流动相：(a) 50%乙腈-水；(b) 60%乙腈-水

检测器：UV (254 nm)

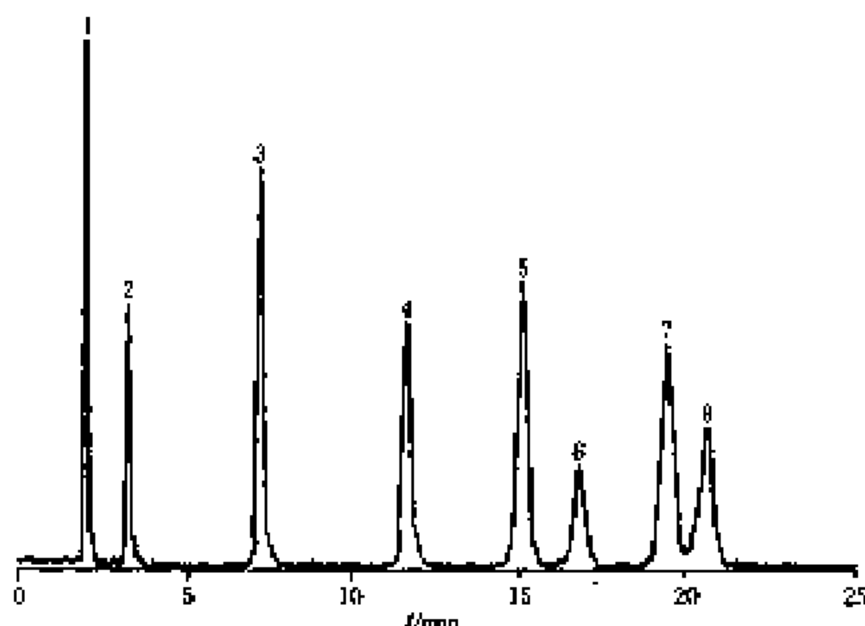


图 11-212 硒代氨基酸标准样离子对色谱图[?]

色谱峰：1—硒代胱氨酸；2—Se-甲基-DL-硒代胱氨酸；3—硒代蛋氨酸；4—Se-烯丙基-DL-硒代半胱氨酸；5—顺式-Se-丙烯基-DL-硒代半胱氨酸；6—反式-Se-L-丙烯基-DL-硒代半胱氨酸；7—硒代乙硫氨酸；8—Se-丙基-DL-硒代半胱氨酸

色谱柱：填充 Zorbax SB-C8，150 mm×4.6 mm (内径)

流动相：水+甲醇 (98+2)，内含 0.1%TFA

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：PerKin Elmer Elan 5000 电感耦合等离子体质谱仪

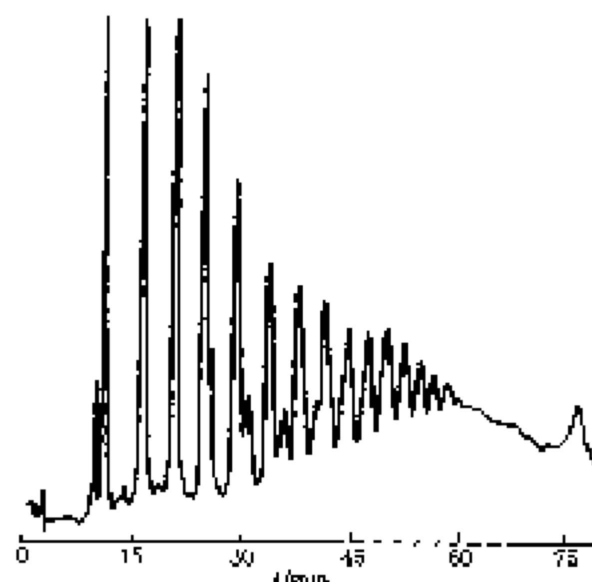


图 11-213 聚磷酸水解产物的离子交换色谱图[22]

色谱柱：HEMA-IEC BIO Q（Alltech），15.0 cm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：淋洗液 A 2 mmol·L^{-1} Tris-$HClO_4$（pH12）；淋洗液 B 2 mmol·L^{-1} Tris-$HClO_4$（pH12）+0.4 mol·L^{-1} $NaClO_4$

梯度冲洗：25%B $\xrightarrow{15\ min}$ 30%B $\xrightarrow{8.75\ min}$ 100%B

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



图 11-214 苹果酸和乳酸分离谱图[23]

色谱峰：1—苹果酸；2—乳酸

色谱柱：Wescan Anion ExClusion 磺酸化聚苯乙烯，30.0 cm×7.8 mm（内径），5 μm

流动相：3.2 mmol·L^{-1} HNO_3

温 度：室温

流 速：1.2 ml·min^{-1}

检测器：电导

参 考 文 献

1 Montgomery R M, Saari-Nordhaus R, Nair L M, et al. J Chromatogr A, 1998, 804: 55
2 Ohta K, Tanaka K, Paull B, Haddad P R. J Chromatogr A, 1997, 770: 219
3 Nair L M, Saari-Nordhaus R. J Chromatogr A, 1998, 804: 233
4 Qiong H, Paull B, Haddad P R. J Chromatogr A, 1997, 770: 3
5 Cardellicchio N, Ragone P, Cavalli S, et al. J Chromatogr A, 1997, 770: 185
6 Liu C, Lee N, Wang T. Analytica Chimica Acta, 1997, 337: 173
7 J Chrom Sci, 1992, 30: 41
8 Adachi T, Takayanagi H, Sharpe A D. J Chromatogr A, 1997, 763: 57
9 Zhang X, Liang S, Lei Z, et al. J Chromatogr A, 1997, 789: 185
10 Sarzanini C, Abollino O, Bruzzoniti M C, et al. J Chromatogr A, 1998, 804: 241
11 Tong C, Shan Z L, Zhu P F. Chromatographia, 1989, 27 (7/8)
12 Seubert A, Klingenberg A. J Chromatogr A, 1997, 782: 149
13 Donald J P, Scott M Q, David M R. J Chromatogr, 1991, 546: 161
14 Rey M A, Pohl C A, Jagodzinski J J, et al. J Chromatogr A, 1998, 804: 201-209
15 Saraswati R, Rao T H. J L Chromatogr, 1993, 16: 3601
16 Liu Y, Wang Q. J Chromatogr, 1993, 644: 73
17 Ohta K, Tanaka K. J Chromatogr A, 1998, 804: 87
18 Rajananda S. J L Chromatogr, 1993, 16: 4095
19 Saari-Nordhaus R, Anderson J M Jr. J Chromatogr A, 1997, 782: 75
20 Marin P, Ataran M B, Lekker M D, et al. Chromatographia, 1992, 33 (11/12)
21 Saari-Nordhaus R, Nair L M, Montgomery R M, et al. J Chromatogr A, 1997, 782: 69
22 J Chrom Sci, 1988, 26: 539
23 Nowa H, Yasui T, Yuchi A, et al. J Chromatogr A, 1997, 789: 491

24　Jones P. J Chromatogr, 1993, 653: 257
25　Li J, Fritz J S. J Chromatogr A, 1998, 793: 231
26　Klingenberg A, Seubert A. J Chromatogr A, 1998, 804: 63
27　Jones P, Nesterenko P N. J Chromatogr A, 1997, 789: 413
28　J Chrom Sci, 1988, 26: 484
29　Reiffenstuhl S, Bonn G. J Chromatogr, 1989, 482: 289
30　Nair L M, Rassoah S, James M A. J Chromatogr, 1993, 640: 41
31　Sacchero G, Abollino O, Porta V, et al. Chromatographia, 1991, 31(11/12)
32　de Waal W A J, Maessen S, Kraak J C, et al. Chromatographia, 1990, 30(1/2)
33　Nagaosa Y, et al. Anal Chem, 1991, 63: 28
34　Rocklin R D. J Chromatogr, 1991, 546: 175
35　Nesterenko P N, Zhukova O S, Shpigun O A, et al. J Chromatogr A, 1998, 813: 47
36　Fagan P A, Haddad P R, Mitchell I, et al. J Chromatogr A, 1998, 804: 249
37　J Chrom Sci, 1990, 28: 606
38　Sutton R M C, Hill S J, Jones P. J Chromatogr A, 1997, 789: 389
39　Rey M A, Riviello J M, Pohl C A. J Chromatogr A, 1997, 789: 149
40　Dlouhy J, Smith R G. J Chromatogr, 1991, 546: 73
41　Acaba M, Oguma K, Kuroda R. Chromatogr, 1990, 29(11/12)
42　Hajos P. J Chromatogr A, 1997, 789: 141
43　Nesterenko P N, Jones P. J Chromatogr A, 1997, 770: 129
44　J Chrom Sci, 1988, 26: 538
45　Jensen D, Rey M A, Pohl C A. J Chromatogr, 1993, 640: 65
46　Daigle R, Mehra M C, Mallet V. Chromatographia, 1991, 32(3/4)
47　J Chrom Sci, 1988, 26: 297
48　Lamb J D, Smith R G, Jagodzinski J. J Chromatogr, 1993, 640: 33
49　Marheni P R H, Anderson R M. J Chromatogr, 1991, 546: 221
50　Pohl C A, Stillian J R, Jackson P E. J Chromatogr A, 1997, 789: 29
51　Taylor C E. J Chromatogr A, 1997, 770: 261
52　Okada T. J Chromatogr A, 1997, 758: 19
53　Bird S M, Ge H, Uden P C, et al. J Chromatogr A, 1997, 789: 349
54　Pohl C A, Stillian J R, Jackson P E. J Chromatogr A, 1997, 789: 29
55　Miura Y, Saitoh A, Koh T. J Chromatogr A, 1997, 770: 157
56　Weiss J, Saari-Nordhaus R. J Chromatogr, 1993, 640: 49
57　Ahmed A H, Sharm S G, Rains D W. J Chromatogr, 1991, 546: 387
58　Small H. J Chromatogr, 1991, 546: 3
59　J Chrom Sci, 1988, 26: 423
60　J Chrom Sci, 1988, 26: 358
61　Toofan M, Stillian J R, Pohl C A, et al. J Chromatogr A, 1997, 761: 163
62　Nair L M, Saari-Nordhaus R, Montgomery R M. J Chromatogr A, 1997, 789: 127
63　Rasudah S, Henderson I K, Anderson J M, Jr. J Chromatogr, 1991, 546: 89
64　Vermillion W D, Crenshaw M D. J Chromatogr A, 1997, 770: 253
65　J Chrom Sci, 1991, 29: 47
66　Goerde D T, Cox D J, Jandik P, et al. J Chromatogr, 1991, 546: 151
67　Nomura M, Hobo T. J Chromatogr A, 1998, 804: 151
68　Salimi R S, Khaledi M G. Anal Chem, 1994, 66: 1151
69　Sullivan J, Douek M. J Chromatogr A, 1998, 804: 113
70　J Chrom Sci, 1988, 26: 359

71 J Chrom Sci，1988，26，482

72 Groh T，Bachmann K．J L Chromatogr，1992，15：2411

73 Pastore P，Lavagnini I，Boaretto A，et al．J Chromatogr，1989，475：331

74 Chen Z，Alexander P W，Haddad P R．Analytica Chimica Acta，1997，338，41

75 Coquart V，Hennion M C．J Chromatogr，1991，585：67

76 Ghaber C．J Chromatogr A，1998，805：3

77 Zhang Y K，Zou H F，Hong M F，et al．Chromatographia，1991，32(11/12)

78 Bruzzoniti M C，Mentasti E，Sarzanini C，et al．J Chromatogr A，1997，770，13

79 Bird S M，Ge H，Uden P C，et al．J Chromatogr A，1997，769，349

80 Angelino S，Gennaro M C．Analytica Chimica Acta，1997，346，61

81 王素花，广明玉，陈培榕．色谱，1999，17(3)：303

82 Nomura N，Yamaguchi K，Hara M．J L Chromatogr，1991，14：491

83 Zou H F，Zhang Y K，Lu P C．J Chromatogr，1991，545，59

84 Ohta K，Tanaka K，Haddad P R．J Chromatogr A，1997，782，33

85 Lamprecht G，Pichlmayer F，Schmid E R．Chromatographia，1998，47：273

86 J Chrom Sci，1993，31，388

87 Poehler K，Chaloupka A，Kenndler J，et al．J Chromatogr A，1997，770，229

88 左欣，周建光，黄天寿．色谱，1999，17(1)，46

89 J Chrom Sci，1991，29：504

90 William R L，Dennis C J，Morin A R，et al．Anal Chem，1991，63：134

91 Touraine B，Astruc S．Chromatographia，1990，30(7/8)

92 Li J B，Jandik P．J Chromatogr，1991，546：395

93 Cataldi T R I，Centonze D，Casella I G，et al．J Chromatogr A，1997，773，115～121

94 Grane T，Genema W，Gerber G．J Chromatogr，1991，554，193

95 Boutsoglou N A，Fletouris D J，Psomas I E，et al．Analytica Chimica Acta，1997，354：115

第十二章　正相色谱、亲和色谱和排阻色谱谱图

第一节　正相色谱谱图

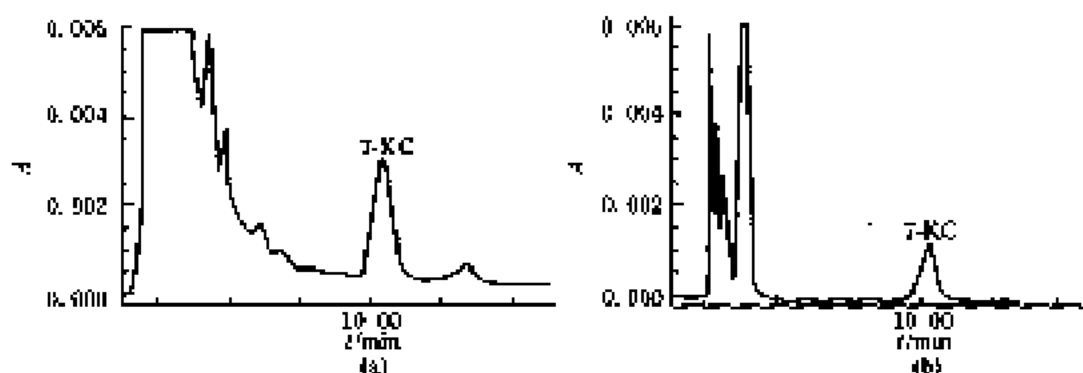


图 12-1　7-酮基胆固醇的分离色谱图[1]

样　品：(a) 人肝细胞悬液样品；(b) 标准品

色谱柱：μ-Porasil，SiO_2，10 μm，4.6 mm×300 mm

流动相：正己烷—异丙醇（体积比＝91∶9）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：二极管阵列

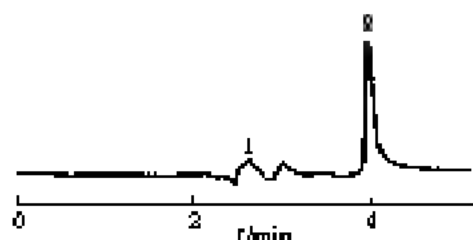


图 12-2　AF B_1 标准品色谱图[2]

色谱峰：1—杂质峰；2—黄曲霉毒素 B_1（AF B_1）

色谱柱：μ-Porasil，3.9 mm（内径）×300 mm

流动相：氯仿＋环己烷＋乙腈＋异丙醇（体积比＝75∶25∶3∶2）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：420 型荧光，λ_{ex}＝365 nm，λ_{em}＝435 nm

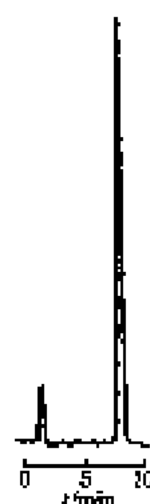


图 12-3　小檗碱色谱图[3]

色谱柱：Lichrosorb SI 60，5 μm，20 cm×4.0 mm（内径）

流动相：二氯甲烷＋甲醇＋二乙胺＋冰乙酸（体积比＝90∶9∶0.4∶0.5）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：岛津 RF-510 荧光分光光度计（λ_{ex}＝365 nm，λ_{em}＝510 nm）Vol 12 No.1 January 94，47 页（色谱）

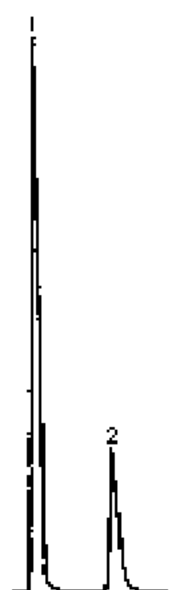


图 12-4　C_{60}、C_{70}分离色谱图[3]

色谱峰：1—C_{60}；2—C_{70}

色谱柱：Residue C_{18}柱　170 mm×4.6 mm，20 μm

流动相：正己烷+异丙醇（体积比=60∶40）

流　量：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

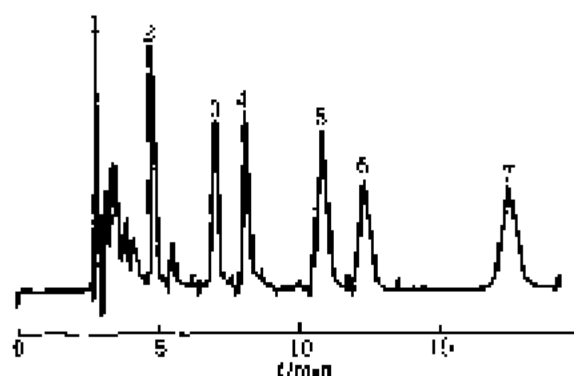


图 12-5　N-DNB-DL-氨基酸丁酯的色谱图[4]

色谱峰：1—乙酰乙酯（2.72 min）；2—L-Val（4.57 min）；3—D-Val（6.93 min）；4—L-Thr（8.07 min）；5—L-Ser（10.85 min）；6—D-Thr（12.34 min）；7—D-Ser（17.34 min）

色谱柱：Phenomenex 手性色谱柱

柱　温：30℃

流动相：正己烷+二氯乙烷+乙醇（体积比=75∶8∶7）

流　速：1 ml·min⁻¹

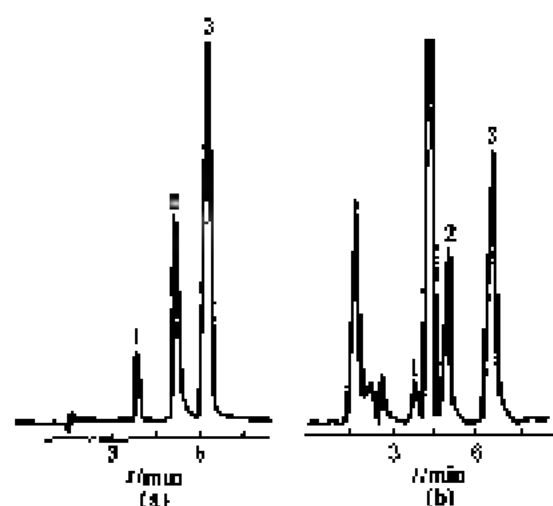


图 12-6　VD-HCD 包合物色谱图[5]

(a) VD-HCD 包合物色谱图；

(b) VD 微胶片色谱图

色谱峰：1—前 VD；2—内标；3—VD

色谱柱：Resolve C_{18}，5 μm，4.6 mm×250 mm

流动相：正己烷—正戊醇（体积比=95∶5）

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：岛津 SPD-M1A 光电二极管阵列

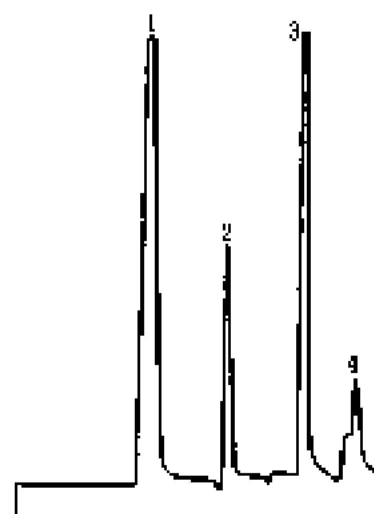


图 12-7　大庆催化裂解柴油分离色谱图[6]

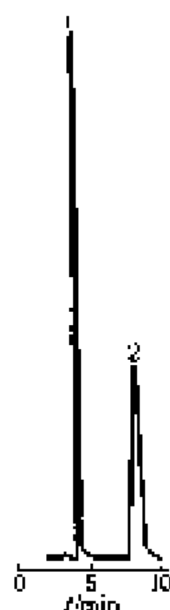
色谱峰：1—饱和烃；2—烯烃；3—芳烃；4—胶质

色谱柱：Ag SCX 柱，10 cm×3.0 mm

流动相：正己烷（含 8%环己烯的正己烷）、二氯甲烷

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：示差折光



色谱峰：1—内标；2—马吲哚

色谱柱：ZORBAX CN　4.6 mm×25 cm

流动相：0.01 mol·L^{-1}磷酸氢铵+甲醇（体积比=2:8）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

图 12-8　马吲哚分离色谱图[9]

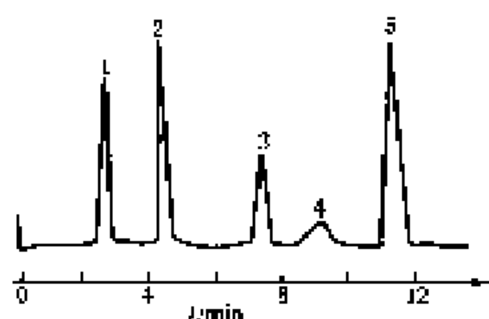
图 12-9　甲苯、苯甲酸、水杨酸等的正相谱图[11]

色谱峰：1—甲苯；2—苯甲酸；3—水杨酸；4—山梨酸；5—对羟基苯甲酸丙酯；6—羟苯甲酸甲酯

色谱柱：填充 Merck 100-CN，125 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：图(a)～(e)己烷+乙醇（体积比=90:10）(f) 己烷+乙醇（体积比=70:30）

检测器：二极管矩阵紫外（260 nm）　　流　速：2.0 ml·min^{-1}



色谱峰：1—甲苯；2—芪；3—o 甲基苯甲醛；4—m 甲基苯甲醛；5—p 甲基苯甲醛

色谱柱：YWG-CN，4.6 mm(内径)×300 mm，(10±2)μm

流动相：正己烷（AR）

流　速：1.9 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

图 12-10　芪及其相关化合物分离色谱图[22]

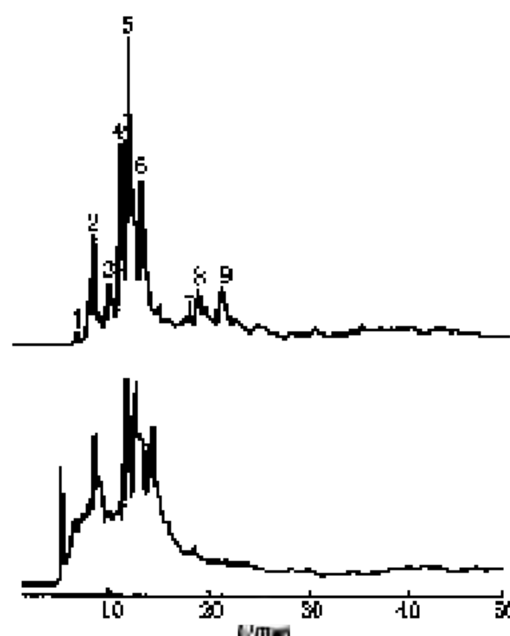


图 12-11　多环芳烃化合物分离色谱图[23]

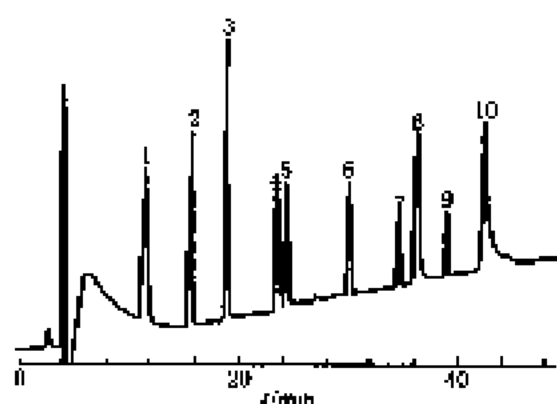
色谱峰：1—萘；2—芴；3—二氢苊；4—苊；5—蒽；6—菲；7—荧蒽；8—苯并蒽；9—芘

色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径），填充 Hypersil CTA，5 μm

流动相：己烷/二氯甲烷（DCM）梯度洗脱　10%DCM，20 min；10%DCM，60 min；最后 100%DCM 等度冲洗

流　速：0.6 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—FY；2—FGGF；3—FLEEI；4—DYMGWMDP-NH₂；5—NFTYGGF；6—AGSE；7—WAGGDASGE；8—YGGFMTSQKSQT PLVT；9—ASTTTNYT；10—VLSEGEWQLVLHVWAKVEADVA GHGQDILIRLFKSHPETLEKFDRFKHLKTEAE

色谱柱：TSK gel Amide-80

流动相：溶剂 A（最初）乙腈＋水（97＋3），内含 0.1% TFA

溶剂 B　0.1%TFA｜乙腈＋水（55＋45）

线性梯度洗脱　溶剂 A，70 min，溶剂 B

检测器：UV（215 nm）

图 12-12　多肽分离色谱图[25]



图 12-13 正构烷烃(C_{12}～C_{22})的微柱 HPLC-GC 联用分析色谱图[4]

色谱峰：1—C_{12}；2—C_{14}；3—C_{16}；4—C_{18}；5—C_{20}；6—C_{21}；7—C_{22}

色谱柱：键合氰基柱，4.6 mm(内径)×300 mm

流动相：正己烷

流　速：0.1 ml·min⁻¹

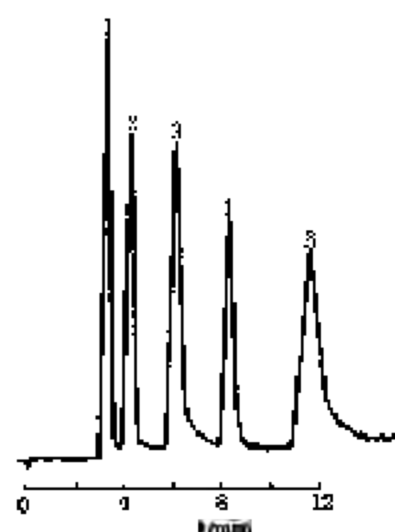
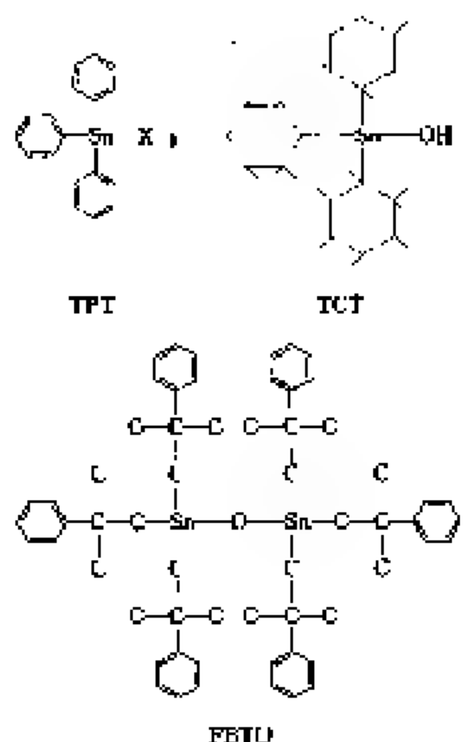


图 12-14 有机锡类化合物谱图[15]

色谱峰：1—TCT (0.6 μg)；2—FBTO (0.7 μg)；3—TPT (0.8 μg)；4—二正丁基锡二氧化物 (0.6 μg)；5—DPT (0.9 μg)



色谱柱：填充 Rosil cyanopropyl，150 mm×4.6 mm (内径)，3μm

流动相：正己烷+THF+乙醇 (体积比=96∶2∶2)

流　速：1.0 ml·min⁻¹

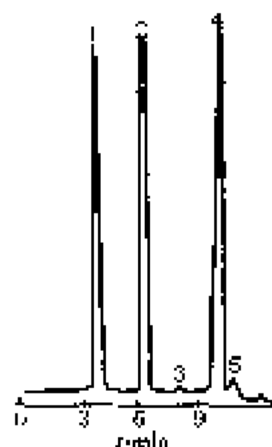


图 12-15 敌草胺的色谱图[10]

色谱峰：1—内标物 (5.38 min)；2—敌草隆 (6.13 min)；3—苯胺隆 (10.87 min)；4,5—杂质

色谱柱：LiChrosorb Si-60，20 cm×0.46 cm，5 μm

流动相：氯仿+石油醚+乙腈+甲醇+异丙醇 (体积比=5+80+5+5+5)

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：UV (254 nm)

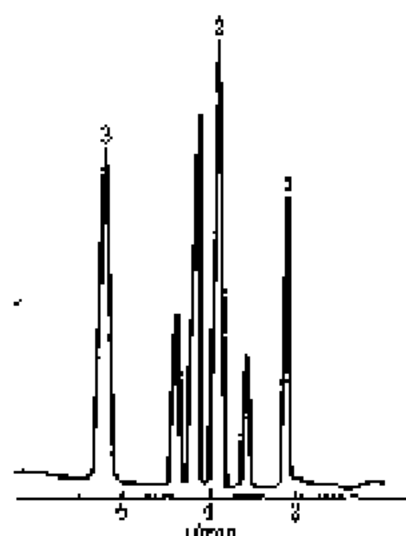


图 12-16 取代苯及其酯类色谱图[34]

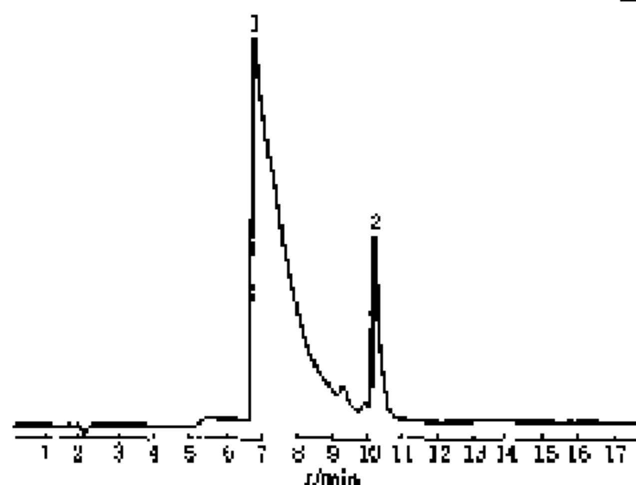
色谱峰：1—2,4-二硝基甲苯；2—对羟基苯甲酸甲酯；3—2,4-甲苯二氨基甲酸二乙酯

色谱柱：YWG-CN，4.6 mm (内径)×300 mm，10 μm

流动相：己烷-乙醇 (体积比=97∶3)

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV (254 nm)



色谱峰：1—1-氟芘；2—芘

色谱柱：填充 Nucleosil 硅胶，250 mm×4 mm (内径)，5 μm

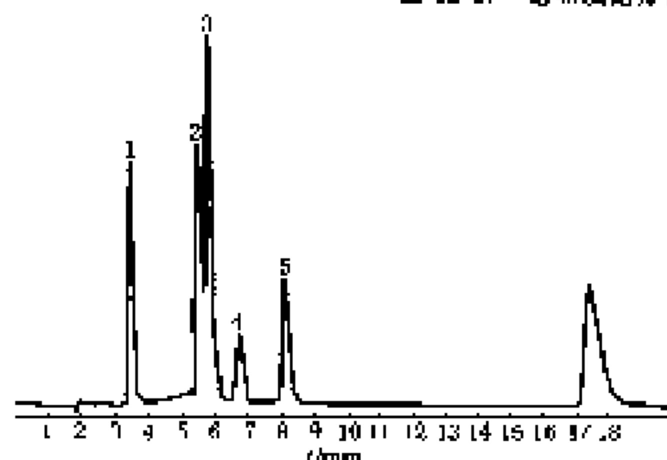
柱　温：室温

流动相：己烷

流　速：2.0 ml·min⁻¹

检测器：二极管矩阵紫外 (254 nm)

图 12-17 芘和氟芘分离色谱图[34]



色谱峰：1—1-氟芘；2—1-氯芘；3—4,5,9-三氟-4,5-二氢芘；4—4,5,x-三氟-4,5-二氢芘；5—4,5-二氟-4,5-二氢芘；6—4,5,9,10-四氟-4,5,9,10-四氢芘

色谱柱：填充 LiChrosorb 硅胶，250 mm×4 mm (内径)，5 μm

柱　温：室温

流动相：己烷

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：二极管矩阵紫外 (254 nm，300 nm)

图 12-18 氟芘及相关化合物的色谱图[34]



图 12-19 苯绕蒽酮及其溴化物色谱图（一）[18]

色谱峰：1—芘；2—3,9-二溴苯绕蒽酮；3—3-溴苯绕蒽酮；4—苯绕蒽酮

色谱柱：YWG-CN，30 cm×4 mm

流动相：石油醚＋四氢呋喃（77＋23）

流 量：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

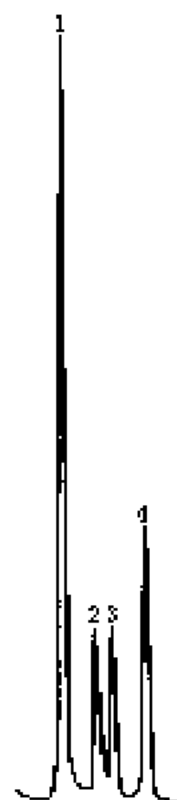


图 12-20 苯绕蒽酮及其溴化物色谱图（二）[18]

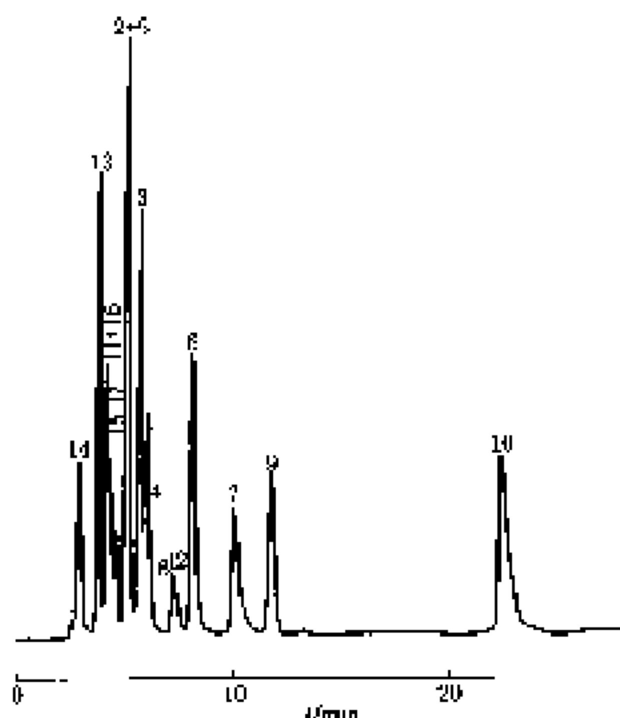
色谱峰：1—芘；2—3,9-二溴苯绕蒽酮；3—溴苯绕蒽酮；4—苯绕蒽酮

色谱柱：Zorbax-σ-S，15 cm×4 mm

流动相：石油醚＋四氢呋喃（70＋30）

流 量：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—苯胺；2—对甲苯胺；3—间甲苯胺；4—对甲苯胺；5—邻甲氧基苯胺；6—间甲氧基苯胺；7—对甲氧基苯胺；8—邻硝基苯胺；9—间硝基苯胺；10—对硝基苯胺；11—邻氯苯胺；12—间氯苯胺；13—N-甲基苯胺；14—N,N-二甲基苯胺；15—2,5-二甲基苯胺；16—2,6-二甲基苯胺；17—对氯苯胺

色谱柱：γ-CD 键合相柱

柱 温：25℃

流动相：2-丙醇＋己烷（体积比＝7.5：92.5）

流 速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV

图 12-21 苯胺类化合物正相分离谱图[20]

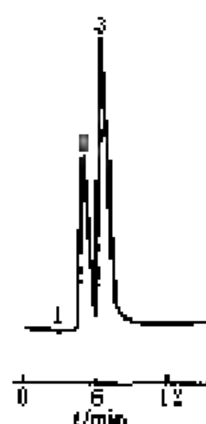


图 12-22　烃类样品族分离谱图[29]

色谱峰：1—烷烃；2—单环芳烃；3—多环芳烃

色谱柱：YMC 硅胶柱，15 cm×2 mm（内径），5 μm

流动相：正己烷，0.3 ml·min⁻¹

流　速：0.3 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

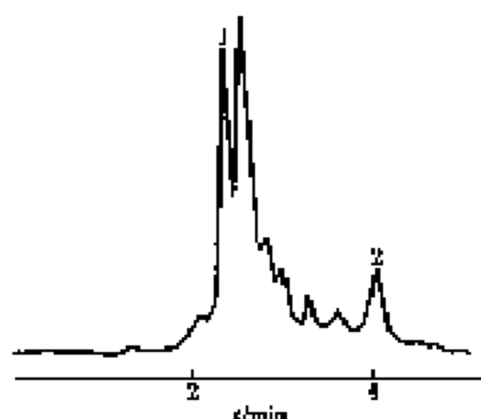


图 12-23　肝癌患者肝组织提取物色谱图[33]

色谱峰：1—抽提物杂峰；2—黄曲霉毒素 B_1

色谱柱：μ-Porasil，3.9 mm（内径）×300 mm

流动相：氯仿−环己烷+乙腈+异丙醇（体积比=75∶25∶3∶2）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：荧光（λ_{ex}=365 nm，λ_{em}=435 nm）

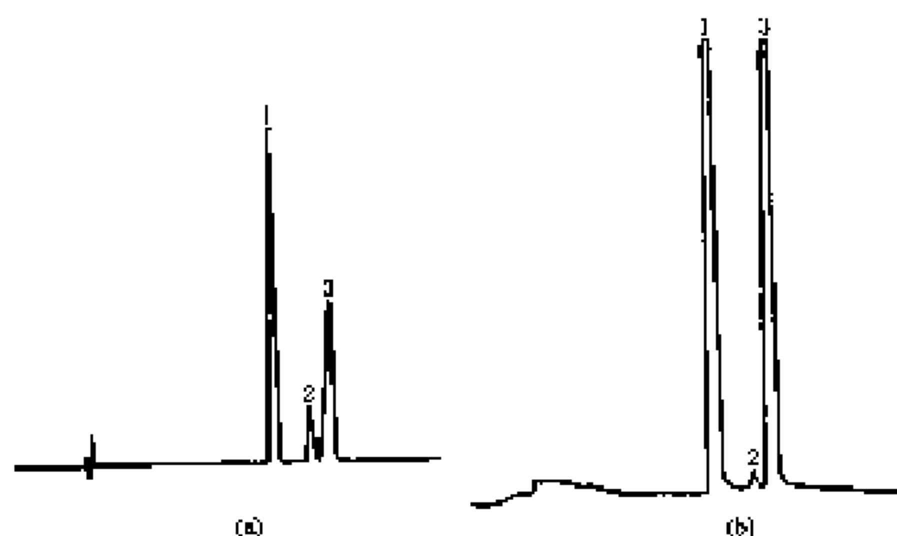


图 12-24　邻、间、对甲苯磺酰胺分离色谱图[37]

(a) 标样图谱；(b) 样品图谱

色谱峰：1—o-甲苯磺酰胺；2—m-甲苯磺酰胺；3—p-甲苯磺酰胺

色谱柱：Shim-pack CLC-SIL 柱，150 mm×6 mm（内径），5 μm

柱　温：50℃

流动相：正己烷或石油醚（60～90℃）+四氢呋喃+甲醇（体积比=78.5∶21∶0.5）

流　速：2 ml·min⁻¹

检测器：UV（268 nm）

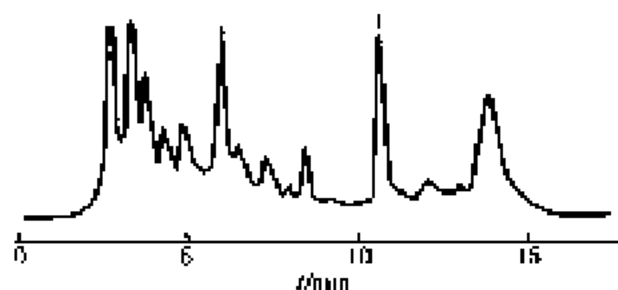


图 12-25 阿魏酸二十二烷酯分离色谱图[7]

色谱峰：1—阿魏酸二十二烷酯

色谱柱：Spherisorb C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：40°C

流动相：甲醇

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（326 nm）

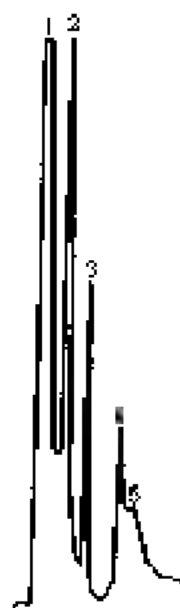


图 12-26 高分子富勒烯的分离谱图[?]

色谱峰：1—甲苯；2—C_{60}；3—C_{70}；4—C_{84}；
5—$C_{?}$

色谱柱：Vesolve C_{18}柱

流动相：正己烷—异丙醇（体积比=75∶25）

流　速：1.0 mL·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

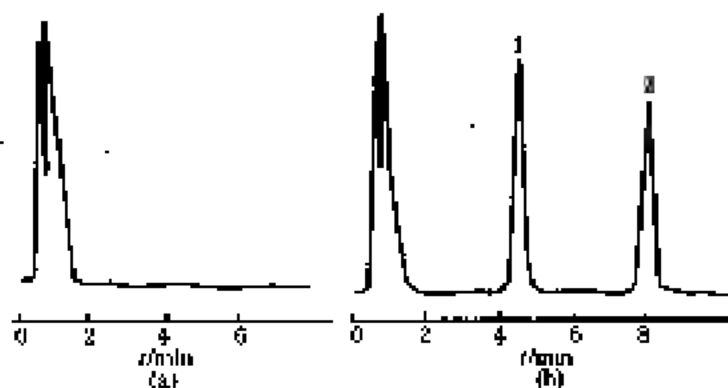


图 12-27 莲心碱分离色谱图[20]

(a) 空白血浆；(b) 加入样品后

色谱峰：1—甲基莲心碱；2—莲心碱

色谱柱：Ultrasphere Si，4.6 mm×250 mm

流动相：二氯甲烷+异丙醇+二乙胺（体积比=75∶25∶0.2）

流　速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（282 nm）

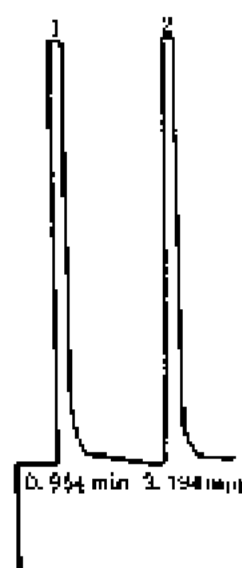


图 12-28　烯烃/白油分离色谱图[4]

色谱峰：1—白油；2—烯烃（n-C_{16}）

色谱柱：银型磺酸键合硅胶柱

流动相：正己烷

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：MW-FID

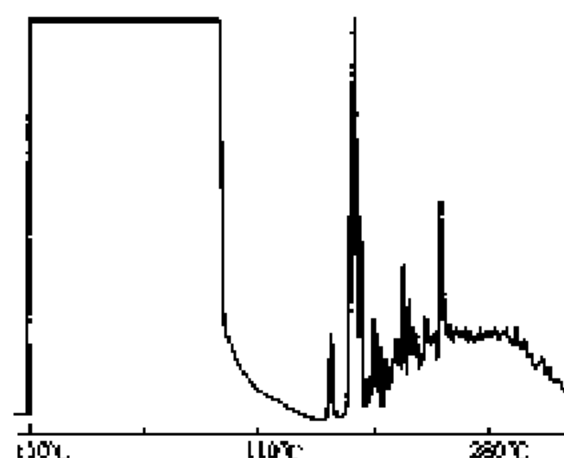


图 12-29　重质石油中芳烃的 HPLC-GC 联用分析[?]

色谱柱：键合氨基柱

流动相：正己烷

流　速：0.6 ml·min^{-1}

柱　温：110℃ ⟶ 280℃（4℃·min^{-1}）

检测器：Waters 410 示差折光

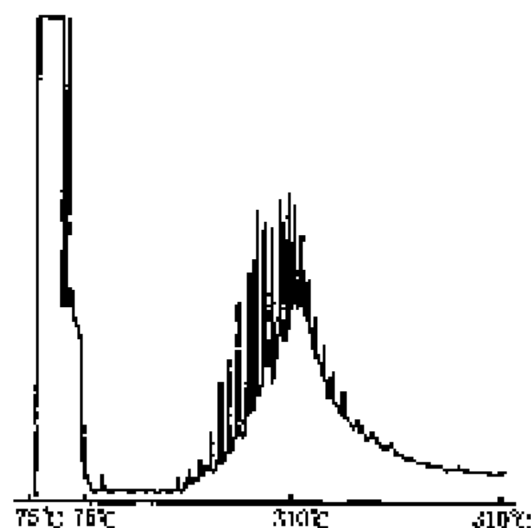


图 12-30　重质石油中饱和烃的 HPLC-GC 联用分析谱图[4]

色谱柱：键合氨基柱

流动相：正己烷

流　速：0.8 ml·min^{-1}

柱　温：110℃ ⟶ 280℃（4℃·min^{-1}）

检测器：Waters 410 示差折光

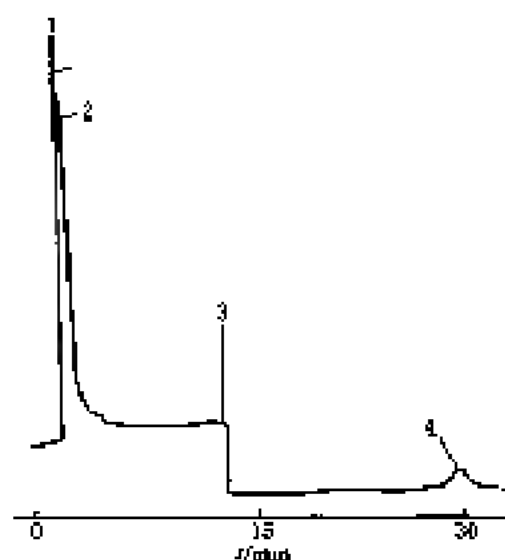


图 12-31　重质石油的烃类族组成的 HPLC 联合反冲流路分析谱图[5]

色谱峰：1—饱和烃；2—芳烃；3—反冲；4—极性化合物

色谱柱：键合氨基柱

流动相：正己烷

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：示差折光

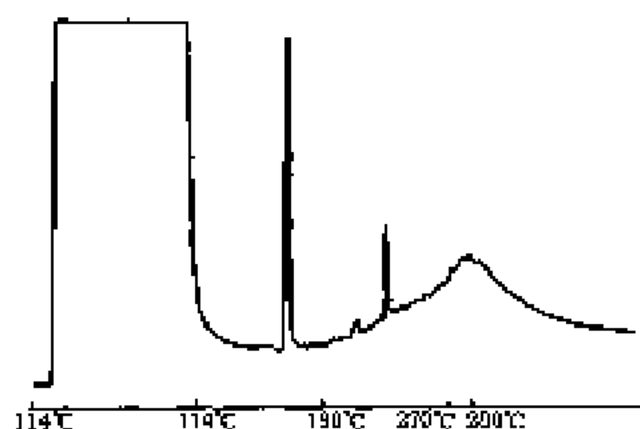


图 12-32 重质石油中极性化合物的HPLC-GC联用分析谱图[9]

色谱柱：键合氰基柱
流动相：正己烷
流　速：0.8 ml·min^{-1}
柱　温：114°C——→280°C (4°C·min^{-1})
检测器：Waters 410示差折光

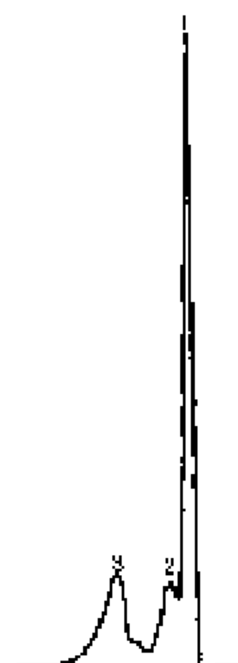


图 12-33 焦柴油脱芳组分在Ag-SCX柱上的分离色谱图[7]

色谱峰：1—饱和烃；2—内标；3—α-烯
色谱柱：Ag-SCX柱，10 cm×3.9 mm
流动相：正己烷（含8%环己烯的正己烷）+二氯甲烷
流　速：1 ml·min^{-1}
检测器：示差折光RI

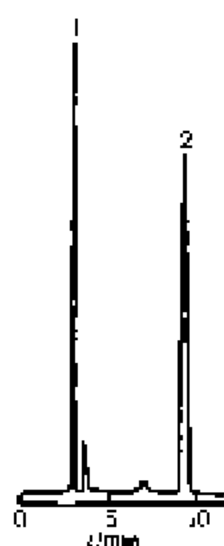


图 12-34 混合乳油"单敌"中灭草松和2,4-滴丁酯分离色谱图[17]

色谱峰：1—灭草松；2—2,4-滴丁酯
色谱柱：Shim-pack clc-ODS (150 mm×6 mm)
流动相：甲醇+乙腈+柠檬酸缓冲液(pH3.1)(体积比=29:21:50)
流　速：1.5 ml·min^{-1}
检测器：UV (292 nm)

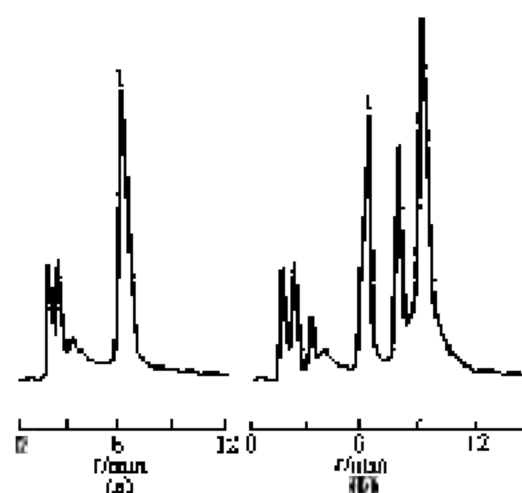


图 12-35 硝酸甘油分离色谱图[15]
(a)标样；(b)动物给药后血样

色谱峰：1—硝酸甘油
色谱柱：Ultrasil NH$_2$ 25 cm×4.6 mm（内径），10 μm
流动相：异辛烷+二氯甲烷+甲醇(体积比=7:2:1)
流　速：1.5 ml·min^{-1}
检测器：热能分析仪

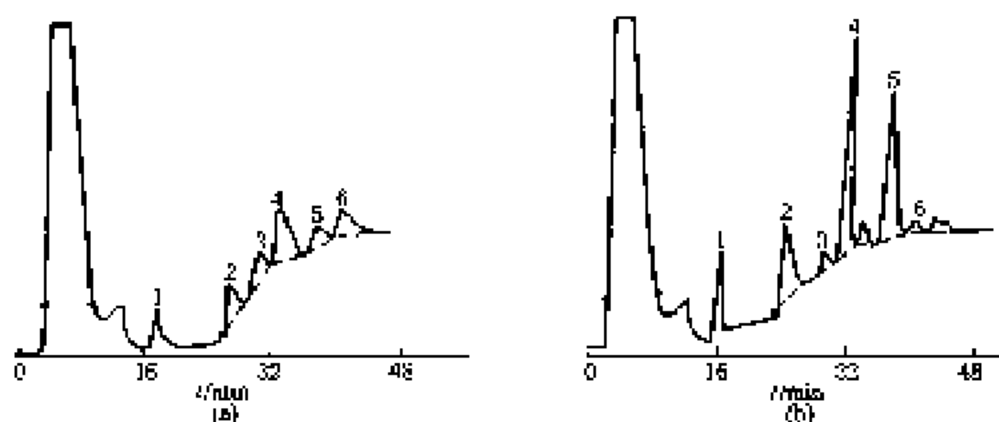


图 12-36　大鼠肝过氧化物酶体磷脂分离色谱图[27]

(a) 标准样品；(b) 实际样品

色谱峰：1—心磷脂；2—磷脂酰肌醇；3—磷脂酰丝氨酸；4—磷脂酰乙醇胺；5—磷脂酰胆碱；6—鞘磷脂

色谱柱：μ-Porasil Si 60 5 μm，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相 A：乙腈；流动相 B：乙腈-磷酸（体积比为 98∶2）；流动相 C：甲醇-磷酸（体积比为 98∶2）

洗脱程序：(0～5) min 为 A 液，(5～5.1) min 由 A 液转换为 B 液，(5.1～15) min 为 B 液，(15～25) min 由 B 液转换为 C 液，(25～45) min 为 C 液

检测器：UV（205 nm）

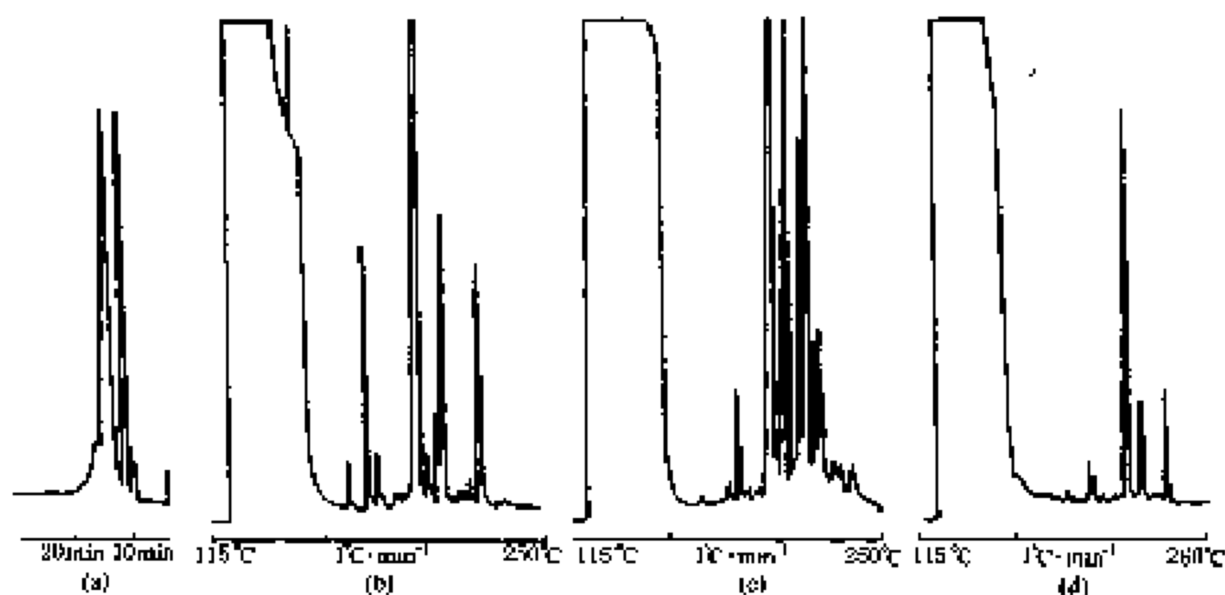


图 12-37　原油的微柱 HPLC-GC 联用分析色谱图[9]

色谱柱：键合氨基柱，4.6 mm（内径）×300 mm

流动相：正己烷

流　速：0.1 ml·min^{-1}

检测器：示差折光

温　度：(a) 115℃；(b) 115℃→250℃（1℃·min^{-1}）；(c) 115℃→250℃（1℃·min^{-1}）；(d) 115℃→260℃（1℃·min^{-1}）

第二节 亲和色谱谱图

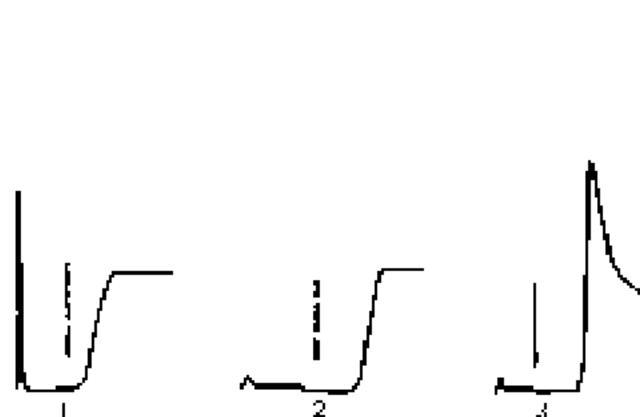


图 12-38 α-、β-、γ-球蛋白的色谱图[21]

色谱峰：1—α-球蛋白；2—β-球蛋白；3—γ-球蛋白

色谱柱：NPS-ACB 50 mm×5 mm（内径）

流动相：5 mmol·L^{-1} Tris-HCl，pH7.8

检测器：UV（280 nm）

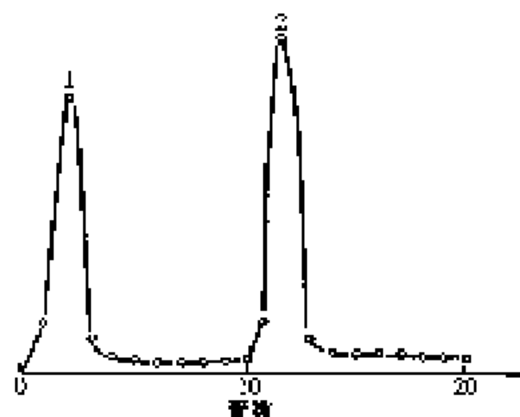


图 12-39 α-氨基酸与二肽混合物分离谱图[24]

色谱峰：1—二肽；2—α-氨基酸

色谱柱：Cu^{2+}-IDA-Sephadex G-25（φ2.5 cm×6.0 cm）

洗脱液：1—$Na_2B_4O_7$—NaOH 缓冲溶液（0.05mol·L^{-1}，pH10.5）；2—0.1 mol·L^{-1} HCl 溶液

检测器：UV（280 nm）

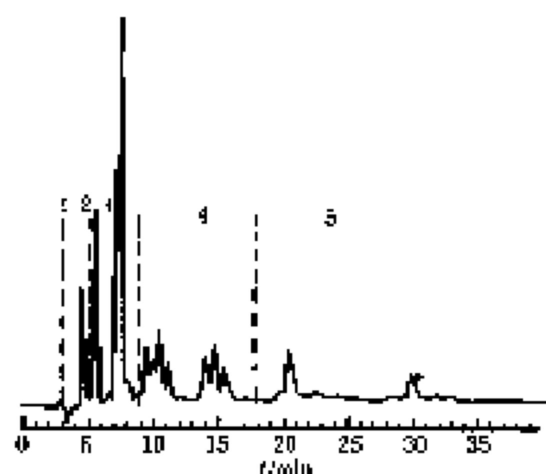


图 12-40 高温焦油中芳烃分布色谱图[32]

色谱峰：1—五甲苯、1,3,5-三甲苯、正丙苯、异丙苯、间二甲苯、乙苯、对二甲苯、苯、甲苯；

2—乙基萘、2,7-二甲萘、α-甲萘、2,6-二甲萘、β-甲萘、3,5-二甲萘、2,3,6-三甲萘、3,4-二甲基联苯、2,3-二甲萘、萘、苊、联苄基、联苯、苊烯；

3—芴、三苯基甲烷、菲、9-甲基芴、9-甲基蒽、蒽、邻三联苯、对三联苯、间三联苯；

4—芘、三亚苯、荧蒽、1,3,5-三苯基苯、9,10-二甲基-1,2-苯并蒽、苯并[c]菲、䓛、苯并[a]蒽、3-甲基胆蒽；

5—苯并[b]荧蒽、20-甲基胆蒽、苯并[a]芘、苝、苯并[e]芘、二苯并[ah]蒽、二苯并[ai]蒽、苯并[k]荧蒽

色谱柱：Zorbax-NH_2，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：正庚烷

流速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

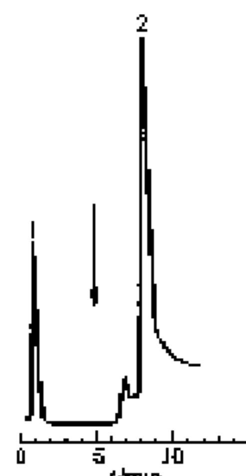


图 12-41 卵清蛋白与赖氨酸的分离色谱图[20]

色谱峰：1—卵清蛋白；2—赖氨酸

色谱柱：NPS-ACB，50 mm×5 mm（内径）

流动相：50 mmol·L^{-1} Tris-HCl（pH9.0）

检测器：UV（280 nm）

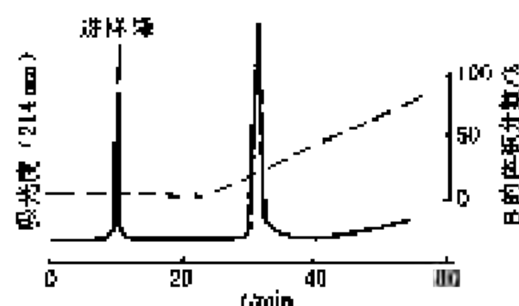


图 12-42　S_8 肽的高效亲和色谱图[32]

S_8 肽＝SerProArgLysSerProArgLysNH$_2$

色谱柱：2.5 cm×2.5（内径），(30～70) 目 DNA 纤维素填充不锈钢柱

流动相：A 10 mmol·L^{-1} Tris+HCl（pH8.0）

B 2.0 mol·L^{-1} NaCl＋10 mmol·L^{-1} Tris-HCl（pH8.0）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：Waters 490E 紫外（214 nm）1.000AUFS

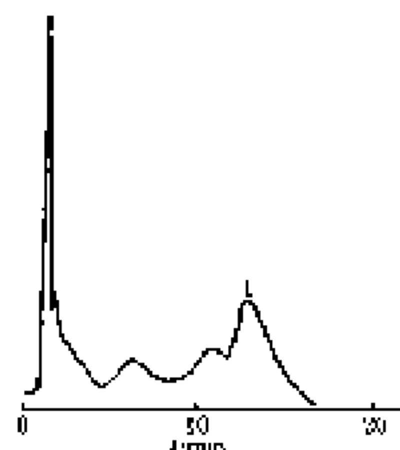


图 12-43　SOD 的色谱图[33]

色谱峰：1—SOD

色谱柱：20A-Cu [100 mm×4.6 mm（内径）]

流动相：A 0.02 mol·L^{-1} PB＋1.2 mol·L^{-1} Na_2SO_4（pH6.5）

B 0.02 mol·L^{-1} PB＋1.2 mol·L^{-1} NH_4Cl（pH6.5）

梯度 B0～100%（20 min）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）

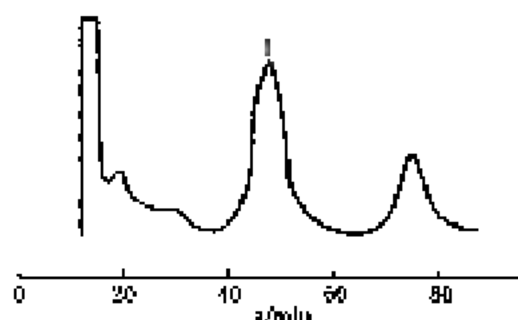


图 12-44　人血清白蛋白制剂分离谱图[34]

色谱峰：1—人血清白蛋白

膜：60 张 CIBACRON BLUE F3GA 复合膜 8 mm×47 mm（内径）

流动相：1.07 mol·L^{-1} NaCl＋40 mmol·L^{-1} 尿素＋0.1 mol·L^{-1} 乙酸钠（pH7.5）缓冲溶液

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：分光光度计

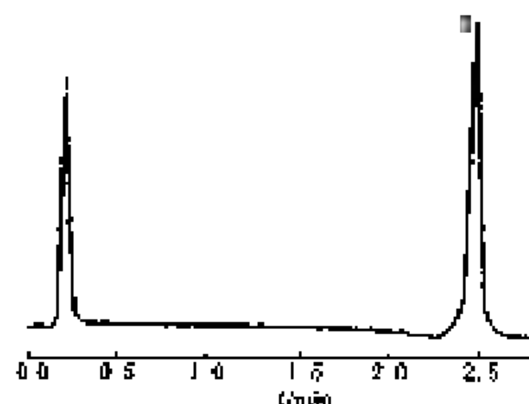


图 12-45　人体生长激素与抗体的色谱图（一）[35]

色谱峰：1—杂质＋过量人体生长激素；2—人体生长激素与抗体结合物

色谱柱：G-蛋白免疫检测柱 [4 cm×1 mm（内径）]

流动相：上样冲洗剂为 0.15 mol·L^{-1} NaCl＋pH7.2 的 10 mmol·L^{-1} 磷酸缓冲液；

洗脱剂为 pH2.6 的 0.15 mol·L^{-1} NaCl 水溶液

流　速：2.0 ml·min^{-1}

检测器：Spectra 100 紫外（220 nm）

进　样：上样冲洗剂为流动相，1 min 后切换成洗脱冲洗剂

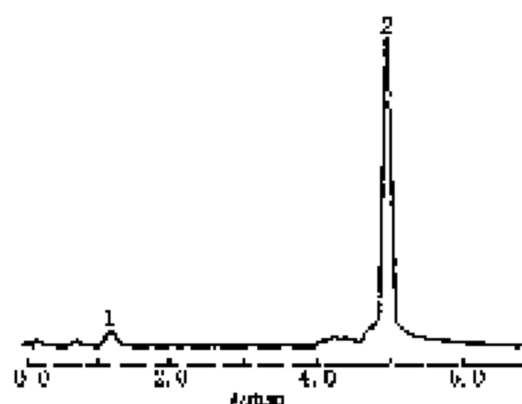


图 12-46　人体生长激素与抗体的色谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—人体生长激素；2—人体生长激素抗体络合物

色谱柱：G-蛋白免疫检测柱 [4 cm×1 mm（内径）]

流动相：0.15 mol·L^{-1}NaCl＋pH7.2 的 10 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（上样冲洗剂）；pH2.6 的 0.15 mol·L^{-1} NaCl 水溶液（冲洗剂）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：Spectra 100 紫外（280 nm）

注　释：在上样冲洗剂为流动相时先注入 30 μl 浓度为 1.60 mg·mL^{-1}的抗体，1 min 后注入与图 1 同量的激素，3 min 后流动相切换为洗脱冲洗剂，实验条件同图 12-45

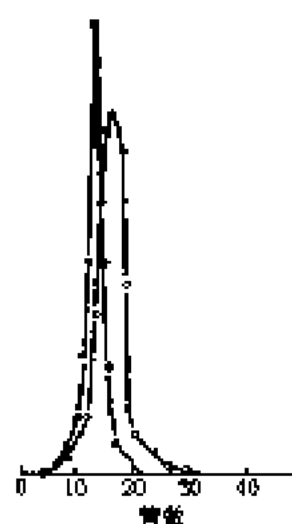


图 12-47　粗酶液 Cu，Zn-SOD 的 DEAE-52 色谱图[illegible]

色谱柱：Cu^{2+}-Sepharose 4B 亲和色谱柱

洗脱液：A 50 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH7.0，含 0.5 mol·L^{-1} NaCl）

B 50 mmol·L^{-1} Tris-HCl 缓冲液（pH8.0，含 0.5 mol·L^{-1} NaCl）

检测器：752 型分光光度计

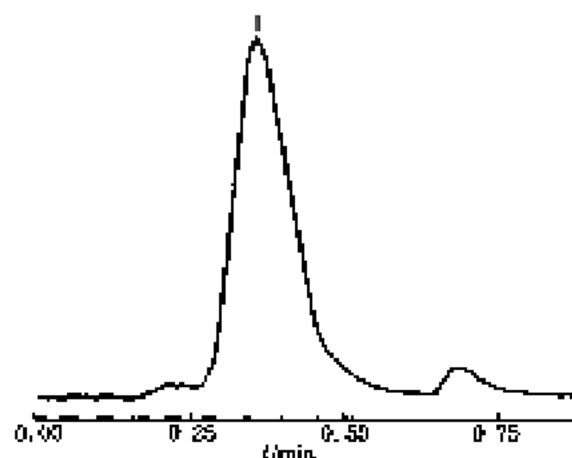


图 12-48　生长激素的色谱图[illegible]

色谱峰：1—人体生长激素

色谱柱：G-蛋白免疫检测柱 [4 cm×1 mm（内径）]

流动相：上样冲剂为 0.15 mol·L^{-1} NaCl＋pH7.2 的 10 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液，冲洗剂为 pH2.6 的 0.15 mol·L^{-1}NaCl 水溶液

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：Spectra 100 紫外（280 nm）

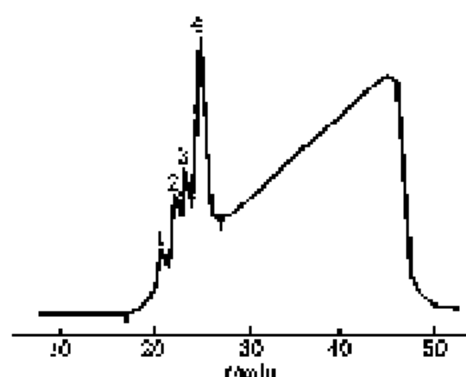


图 12-49 牛血清铁转铁蛋白分离色谱图[38]

色谱峰：1—FeNTfFeC；2—FeNTf；3—TfFe；4—Apo-Tf

色谱柱：螯合亲和柱 TSK gel chelate 5PW [75mm×7.5mm (内径)]

洗脱液：A 含 0.5 mol·L⁻¹NaCl 及 1 mmol·L⁻¹咪唑 HCl 的 0.02 mol·L⁻¹磷酸缓冲液 (pH7.4)

B 含 0.5 mol·L⁻¹NaCl 及 30 mmol·L⁻¹咪唑 HCl 的 0.02 mol·L⁻¹磷酸缓冲溶液 (pH7.4)

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV (280 nm)

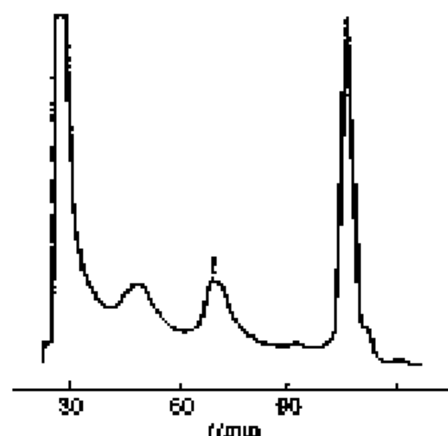


图 12-50 商品碱性磷酸酯酶亲和分离色谱图[28]

色谱峰：1—碱性磷酸酯酶

柱：自制亲和膜 80 张 ProcionE RED K3BP 亲和膜，18 mm×47 mm (内径)

流动相：1.0 mol·L⁻¹NaCl+4.0 mol·L⁻¹尿素+0.1 mol·L⁻¹乙酸钠 (pH7.5) 缓冲溶液

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：上分 752C 分光光度计

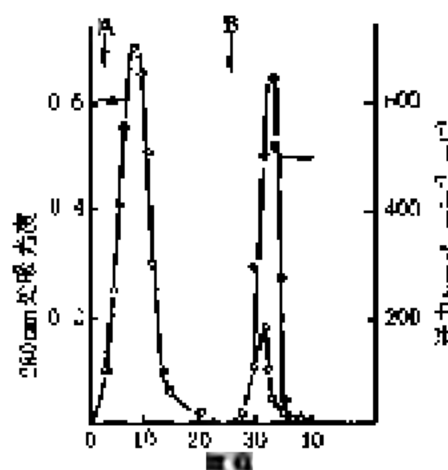


图 12-51 粗酶液 Cu²⁺-Sepharose 4B 色谱图[28]

色谱柱：Cu²⁺-Sepharose 4B 亲和色谱柱

洗脱液：A 50 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液 (pH7.0，含 0.5 mol·L⁻¹NaCl)

B 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液 (pH8.0 含 0.5 mol·L⁻¹NaCl)

检测器：752 型分光光度计

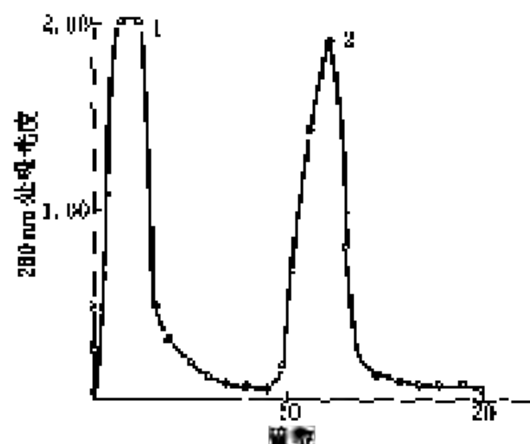


图 12-52 蛋白质水解液的分离谱图[29]

色谱峰：1—肽；2—α-氨基酸混合物

色谱柱：Cu^{2+}-IDA-Sephadex G10 (φ3.0 cm×6.0 cm)

洗脱液：1—醋酸盐氯化钠缓冲液 (0.05 mol·L⁻¹，pH10.5)，2—0.1 mol·L⁻¹HCl

检测器：UV (280 nm)

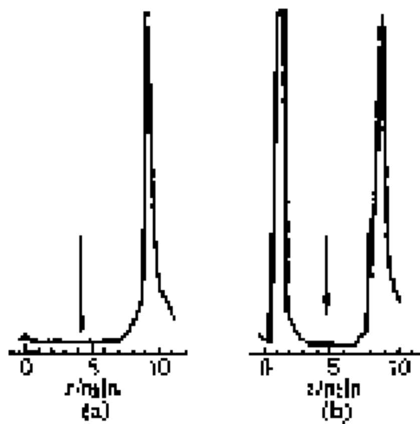


图 12-53 溶菌酶分离色谱图[26]

样 品：(a) 溶菌酶；(b) 鸡蛋清

色谱柱：NPS-ACB，50 mm×5 mm（内径）

流动相：50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl（pH7.8）

检测器：UV（280 nm）

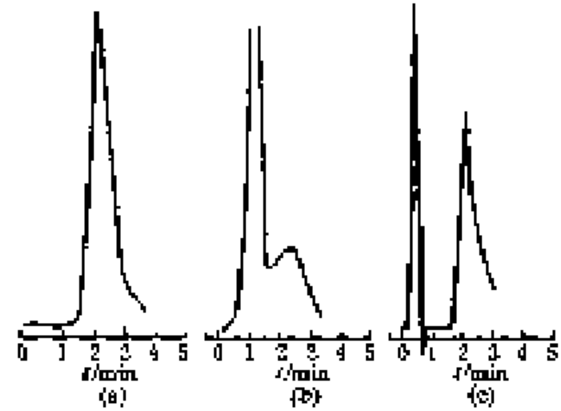


图 12-54 溶菌酶粗制液分离的谱图[26]

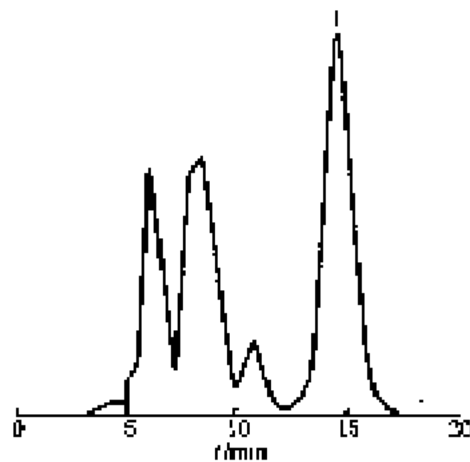
样 品：(a) 溶菌酶纯样；(b) 未经透析的溶菌酶；(c) 透析后的溶菌酶

色谱柱：NPS-ACB，50 mm×5 mm（内径）

流动相：50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲溶液中含 0.5 mol·L⁻¹ NaCl

检测器：UV（280 nm）

第三节 体积排阻色谱谱图



色谱峰：1—色氨酸

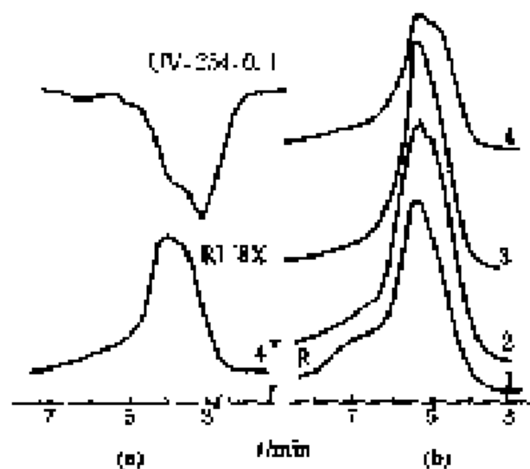
色谱柱：TOYOPEARL HW-40S 凝胶柱 φ0.75 cm×3 cm

流动相：0.06 mol·L⁻¹ Tris-HCl（pH8.9）缓冲液为母液，加入各种改良试剂

流 速：400 μl·min⁻¹

检测器：UV，8000 型分光光度计

图 12-55 18 种氨基酸在 HW-40S 柱上的色谱图[27]



(a) 4 号 SOD 样品的 RI，UV GPC 图；

(b) 1～4 号 SOD 样品的 RI GPC 图

色谱峰：1—未修饰 SOD，2—牛血 SOD 修饰后未过柱；3—牛血 SOD 修饰后过柱第一级分；4—牛血 SOD 修饰后过柱第二级分（SOD-超氧化物歧化酶）

色谱柱：μ-Bondagel E-400Å＋E-500Å 双柱串联

流动相：0.02%叠氮化钠水溶液

流速及压力：1.0 ml·min⁻¹，1.242×10⁷ Pa

检测器：UV 254/0.2 和 RI/8X

图 12-56 SOD 样品的 GPC 图[28]

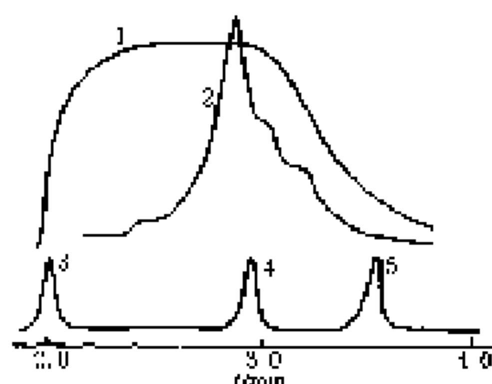


图 12-57　木质素磺酸盐与聚苯乙烯磺酸钠分离色谱图[44]

色谱峰：1—低分子量的木质素磺酸钙；2—木质素磺酸钠；3—聚苯乙烯磺酸钠标样；4—聚苯乙烯磺酸钠标样；5—苯甲基磺酸钠

色谱柱：μ-Bondagel E-125，39 mm×30 cm

流动相：0.1 mol·L⁻¹ NaCl＋乙腈

流　速：0.8 ml·min⁻¹　　　　检测器：UV（280 nm）

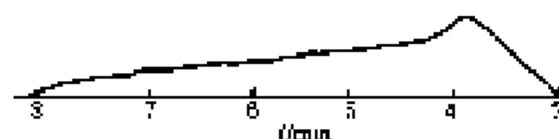


图 12-58　瓜胶原粉色谱图[44]

色谱柱：串联使用 Waters M-Bondagel E300＋E500

柱　温：15℃

流动相：纯水＋0.01% NaN_3 水溶液

检测器：RI/8X

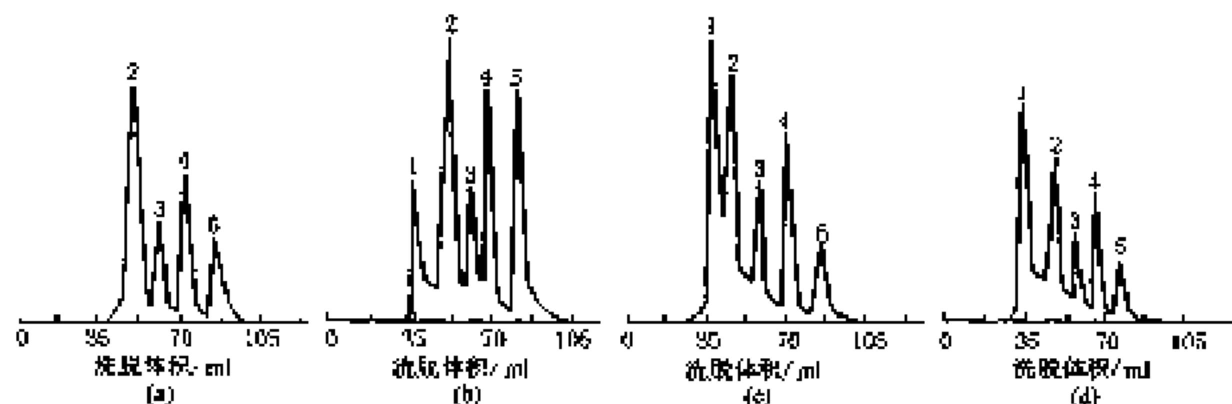


图 12-59　卵清蛋白与糖酐等分离色谱图[36]

色谱峰：1—蓝色右旋糖酐（M＝2000000）；2—γ球蛋白（M＝160000）；3—卵清蛋白（M＝43000）；4—细胞色素c（M＝13000）；5—谷胱甘肽（M＝612.6）

色谱柱：1.6 cm×50 cm (a) Sephacryl S-200；(b) Sephacryl S-300；(c) Acryldex A-200；(d) Acryldex A-500

洗脱液：Tris-HCl（pH7.5）

流　速：13~14 ml·cm⁻²·h⁻¹

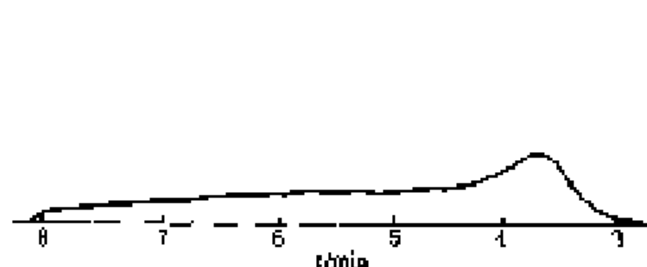


图 12-60　田菁胶色谱图[44]

色谱峰：田菁胶的分子量分布

色谱柱：串联使用 Waters μ-Bondagel E300＋E500

柱　温：15℃

流动相：纯水＋0.01% NaN_3 水溶液

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：RI/8X

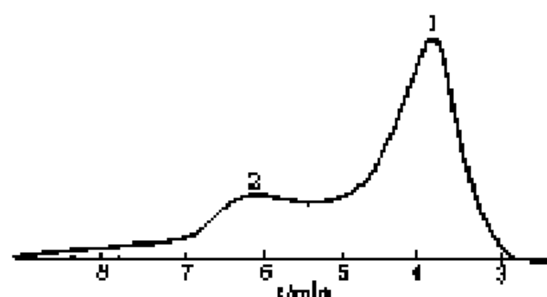


图 12-61　羟丙基田菁胶色谱图[44]

色谱峰：1—羟丙基田菁胶；2—降解产物

色谱柱：串联使用 Waters M-Bondagel E300＋E500

柱　温：15℃

流动相：纯水＋0.02% NaN_3 水溶液

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：RI/8X

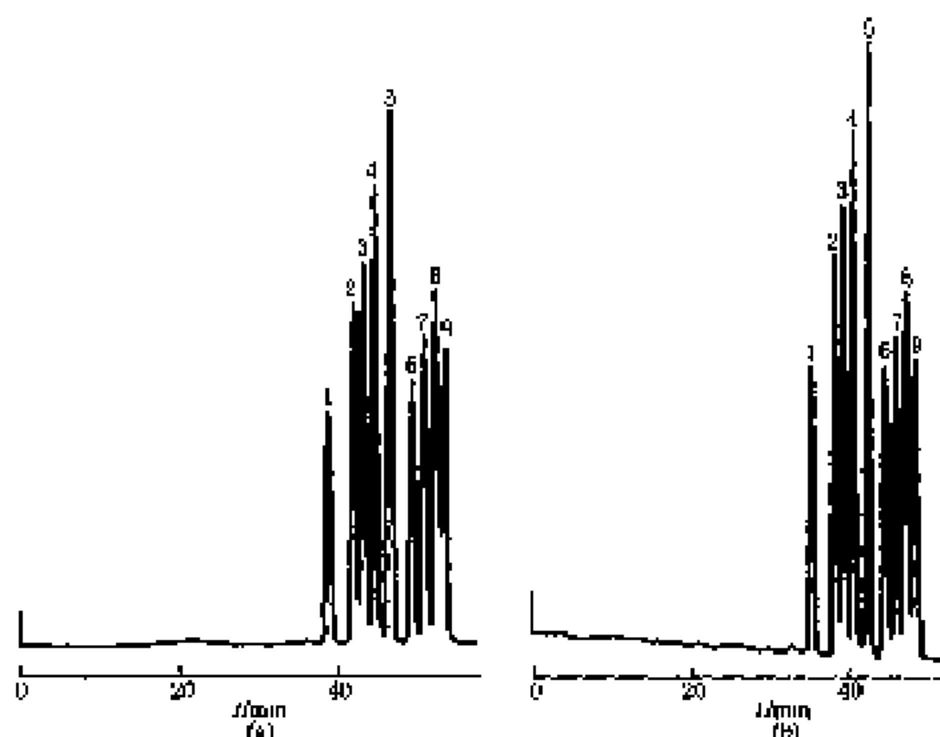


图 12-62　二烃基邻苯二甲酸盐和烷基苯人工合成物分离色谱图[40]

色谱峰：1—二-2-乙基己基邻苯二甲酸盐；2—二-正丁基邻苯二甲酸盐；3—二-正丙基邻苯二甲酸盐；4—二乙基邻苯二甲酸盐；5—二甲基邻苯二甲酸盐；6—正丙基苯；7—乙苯；8—甲苯；9—苯

色谱柱：Shodex GPC KF-803，1 m×0.32 mm（内径）

流动相：四氢呋喃

流　速：1.0 ml·min⁻¹

柱　温：(a) 27℃；(b) 100℃

检测器：UV（254 nm）

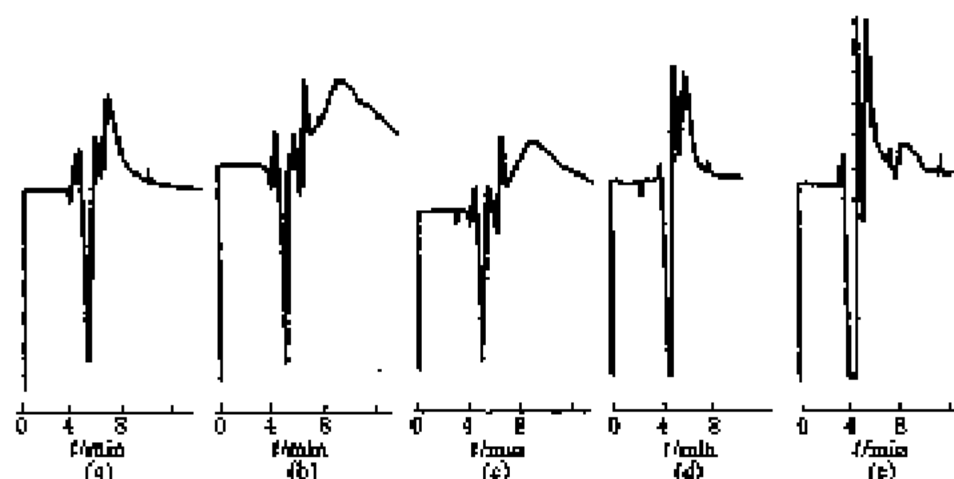


图 12-63　不同来源蛋白质色谱图[34]

(a) 参照蛋白牛胸腺组蛋白色谱图；(b) 参照蛋白鲑鱼精蛋白色谱图；(c) 正常男性精液生殖细胞核碱性蛋白色谱图；(d)、(e) 不育男性精液生殖细胞核碱性蛋白色谱图

色谱柱：TSK G3000 SW 分子筛

流动相：8 mol·L⁻¹尿素

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：2151 多波长 UV（216 nm）

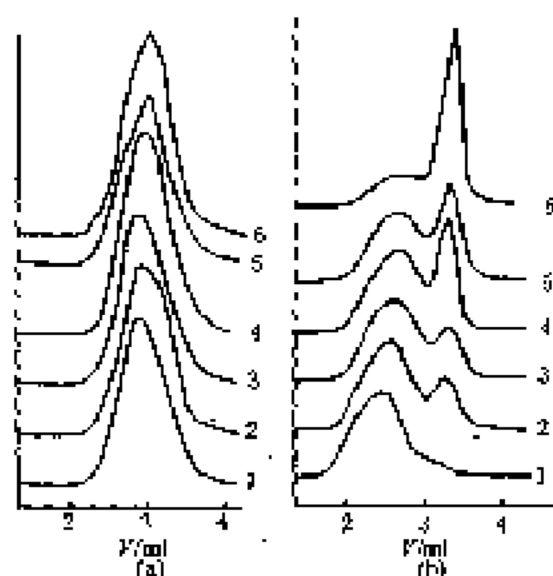


图 12-64　褐藻酸钠在不同离子强度下的高效凝胶色谱图[45]

(a) Dextran T500；(b) 褐藻酸钠 (sodium alginate)

色谱峰：1—H_2O；2—0.01 mol·L^{-1} NaCl；3—0.05 mol·L^{-1} NaCl；4—0.10 mol·L^{-1} NaCl；5—0.20 mol·L^{-1} NaCl；6—0.50 mol·L^{-1} NaCl

色谱柱：Bondagel E-High A

流动相：石英玻璃重蒸水

检测器：RID-6A 示差折光

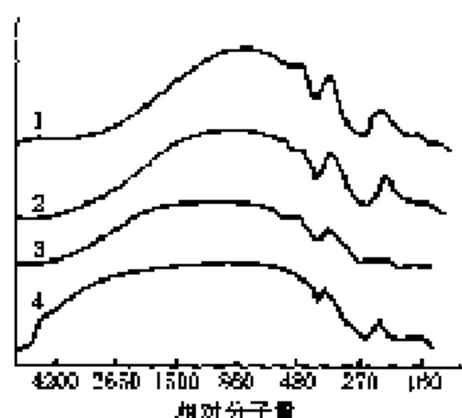


图 12-65　脲醛树脂不同合成阶段的 GPC 谱图

色谱峰：1~4 分别表示合成阶段的试样 (1—原料加完后；2—反应 30 min；3—合成体系温度为 100℃，压力为 0.08 MPa 时；4—反应结束时)

色谱柱：HSG-20，600 mm×7.9 mm (内径)

流动相：四氢呋喃

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：(40.0±0.5)℃

检测器：RI

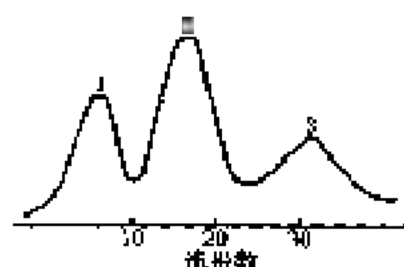


图 12-66　巴豆毒蛋白在凝胶柱上的分离谱图[46]

色谱峰：1—巴豆毒蛋白Ⅰ；2—巴豆毒蛋白Ⅱ；3—非蛋白组分

分离柱：Sephadex G-75

洗脱剂：PBS

检测器：UV (280 nm)

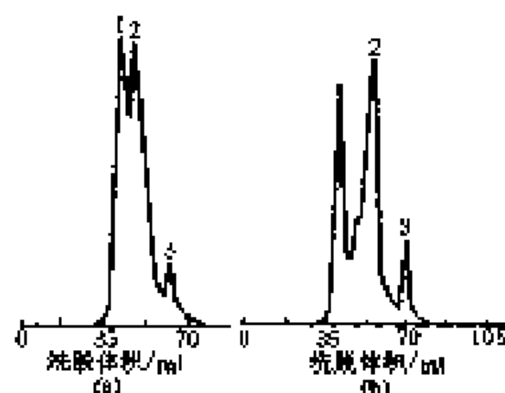


图 12-67　蛋白质分离的色谱图[47]

(a) Acrylex A-300；(b) Acrylex A-300

色谱峰：1—蓝色右旋糖酐；2—铁蛋白；3—牛血清白蛋白

色谱柱：1.6 cm×50 cm

流动相：Tris-HCl (pH7.5)

流　速：13.14 ml·cm^{-2}·h^{-1}

检测器：UV

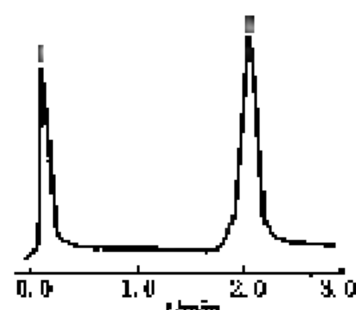


图 12-68 以蛋白质A为配基的膜色谱柱上HIgG分离谱图[47]

色谱峰：1—不纯物；2—HIgG

色谱柱：膜色谱柱，20 mm×4mm（内径）

流动相：上样液：50 mmol·L^{-1}磷酸缓冲液（含0.15 mol·L^{-1}NaCl）(pH7.0)

洗脱液：0.2 mol·L^{-1}甘氨酸-盐酸缓冲液（pH2.3）上样后先用上样液冲洗3min，再改用洗脱液冲洗2min

检测器：UV（280 nm）

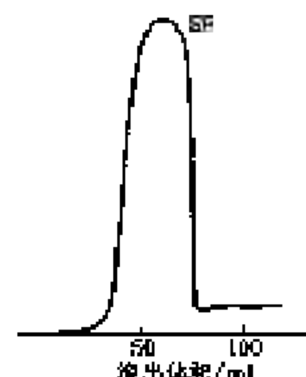
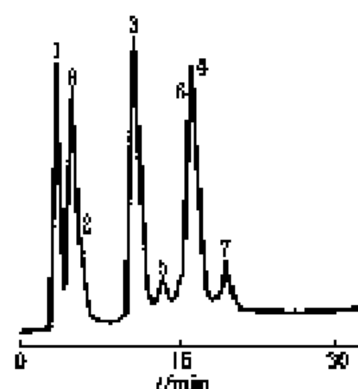


图 12-69 豆薯种子粗提液在强阳离子交换柱上的分离谱图[48]

分离柱：S-SPP，2.6cm×50cm

洗脱液：含0.9%NaCl（pH7.2）的5mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液

检测器：UV（280 nm）



色谱峰：1—细胞色素c；2—RNase；3—溶菌酶；4—BSA；5—OVA；6—α-糜蛋白酶；7—α-糜蛋白酶原；8—MYO

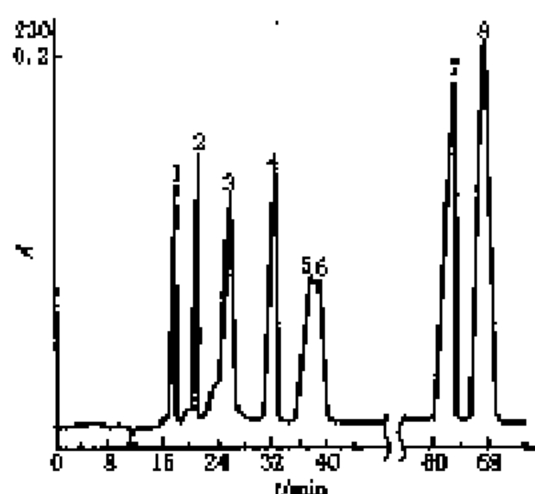
色谱柱：丁基-TSK3000，6 mm×150 mm

流动相：0.1 mol·L^{-1}PB，pH6.0，硫酸铵从1.5 mol·L^{-1}到0 mol·L^{-1}60 min线性梯度

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV

图 12-70 蛋白质排阻色谱分离谱图[49]



色谱峰：1—顺-5,6-二羟基-5,6-二氢胸苷；2—胸苷；3—cis-syn-Thy<>Thy，cis-syn-Ura<>Thy，cis-syn-Ura<>Ura；4—尿苷+胸苷；5—5-羟基-6-4（5'-甲基嘧啶-2'-one）5,6-二氢胸苷；6—5-二氢-5-(α-胸基)胸苷；7—鸟苷；8—腺苷

色谱柱：TSK G 1000PW，30 cm×0.75 cm（内径）

流动相：水

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（230 nm）

图 12-71 核苷碱基光导分解产物分离色谱图[50]

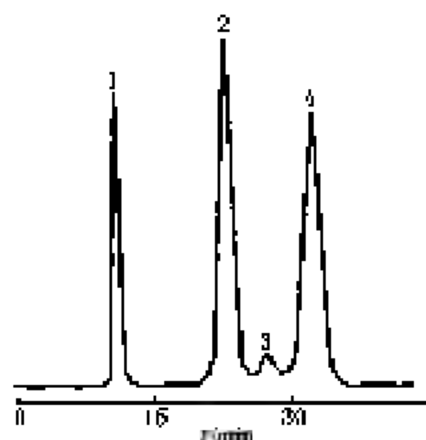


图 12-72 核苷酸排阻分离色谱图（一）[49]

色谱峰：1—噬菌体λⅡ片段；2—5,6-二羟基-5,6-二氢胸苷5'-单磷酸的(+)顺(5S,6R)和(−)顺(5R,6S)非对映体；3—5,6-二羟基-5,6-二氢胸苷的(+)顺(5S,6R)、(−)顺(5R,6S)、(−)反(5S,6S)和反(5R,6R)-的非对映体；4—胸苷

色谱柱：Fractogel HW 55F，30 cm×1.6 cm（内径）

流动相：0.1 mol·L⁻¹甲酸铵（pH6.5）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（254nm）

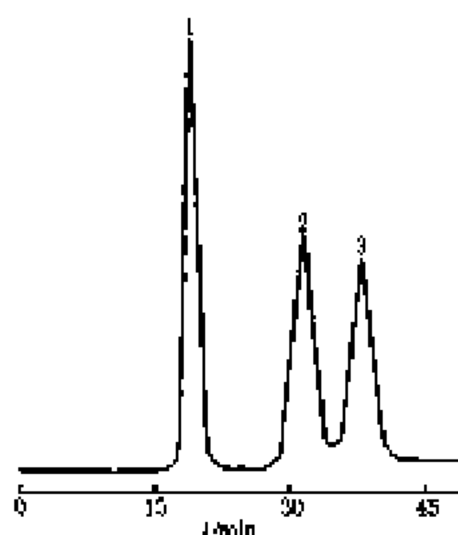


图 12-73 核苷酸排阻分离色谱图（二）[49]

色谱峰：1—2'-脱氧胸苷 N³-氧化物；2—2'-脱氧胸苷；3—胸苷

色谱柱：Fractogel HW 55F，30 cm×1 cm（内径）

流动相：0.1 mol·L⁻¹甲酸铵（pH6.5）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

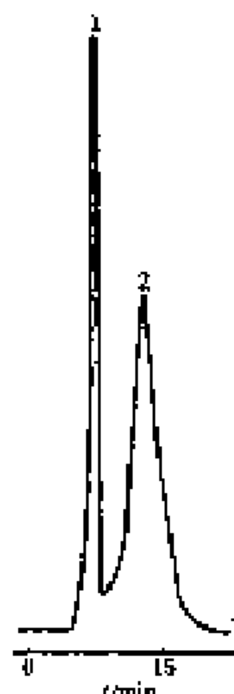


图 12-74 核糖核酸的排阻分离色谱图[49]

色谱峰：1—脱氧核糖核酸；2—核糖核酸

色谱柱：Fractogel HW 55F，30 cm×1 cm（内径）

流动相：0.1 mol·L⁻¹甲酸铵（pH6.5）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

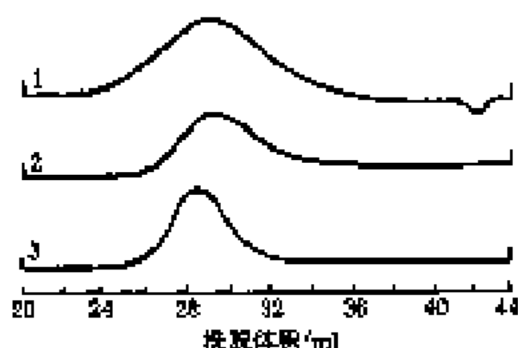


图 12-75 苯乙烯等接枝共聚产物的体积排阻色谱图（一）[30]

色谱峰：1—原试样；2—分离除去聚苯乙烯后；3—分离除去聚氯乙烯和聚硅氧烷后

色谱柱：Styragel 10^4 nm，10^3 nm，10^2 nm，50 nm 串联

流动相：甲苯

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：示差折光仪

柱　温：25℃

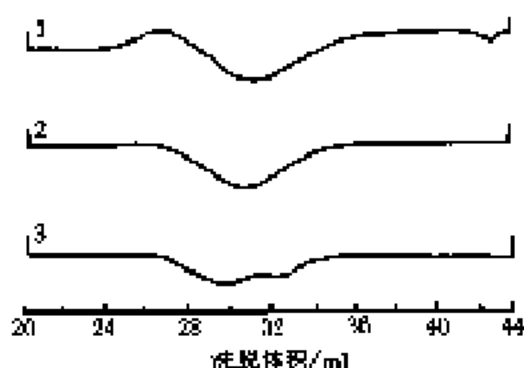


图 12-76 苯乙烯等接枝共聚产物的体积排阻色谱图（二）[30]

色谱峰：1—原试样；2—分离除去聚苯乙烯后；3—分离除去聚苯乙烯和聚硅氧烷后

色谱柱：Styragel 10^4 nm，10^3 nm，10^2 nm，50 nm 串联

流动相：甲苯

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：示差折光仪

柱　温：25℃

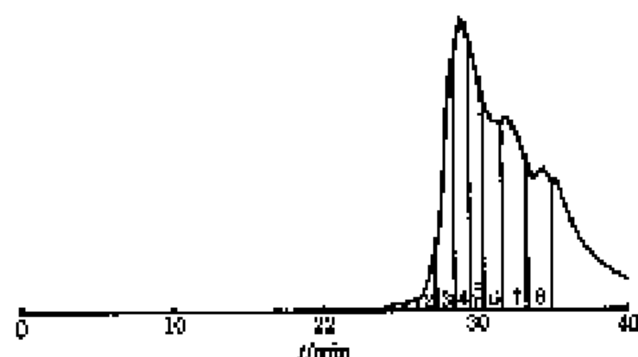


图 12-77 鸡蛋白水解产物肽酸化排阻色谱图[31]

色谱峰（分子量范围）：1—10700～3667；2—3667～1929；3—1929～1070；4—1070～594；5—594～415；6—415～183；7—183～86；8—86 以上

色谱柱：TSK G-2000SW，600 mm×7.5 mm（内径）

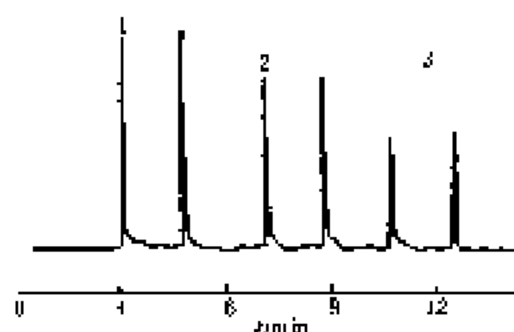
保护柱：60 mm×7.5 mm（内径）

流动相：0.1%TFA+0.13 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH5）

流　速：0.75 ml·min^{-1}

柱　温：22℃

检测器：Model 1040A 二极管阵列（214nm）



色谱峰：（聚丙烯酰胺）1—100 mg·L⁻¹，2—70 mg·L⁻¹，3—40 mg·L⁻¹

色谱柱：TSK PW2000

流动相：Na_2HPO_4+NaH_2PO_4+聚氧乙烯月桂醚

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（204 nm）

图 12-78　聚丙烯酰胺浓度-吸收高度关系谱图[52]

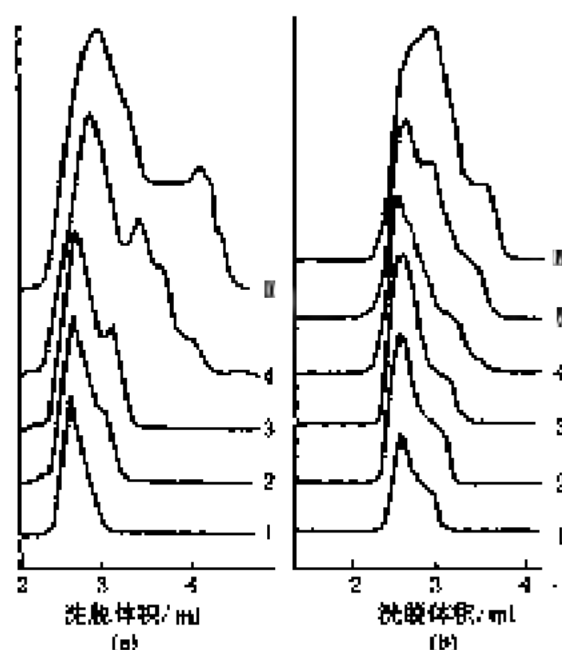


图 12-79　褐藻酸钠的凝胶色谱图[55]

（a）褐藻酸盐浓度对谱图的影响；（b）进样体积对谱图的影响

色谱峰：（a）褐藻酸钠的浓度

1—0.05%，2—0.08%，3—0.10%，4—0.20%，5—0.30%；

（b）褐藻酸钠体积（进样浓度为 0.10%）

1—20 μl，2—30 μl，3—40 μl，4—50 μl，5—70 μl，6—90 μl

色谱柱：Bondagel E-High A

流动相：石英蒸馏重蒸水

洗脱液：蒸馏水

进样量：（a）50 μl；（b）0.10%

检测器：RID-6A 示差折光

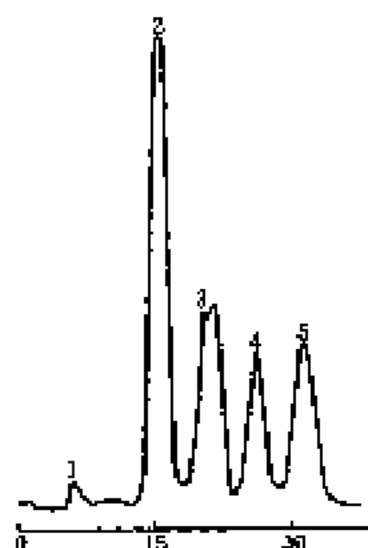


图 12-80　脱氧核糖核酸的排阻色谱图[31]

色谱峰：1—脱氧核糖核酸；2—P1 水解物；3—2'-脱氧胞苷酸钠盐；4—3'-脱氧鸟苷；5—2'-脱氧腺苷

色谱柱：Fractogel HW 55F，30 cm×1 cm（内径）

流动相：0.1 mol·L⁻¹甲酸铵（pH6.5）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

参 考 文 献

1　张庆合，吴祖平，曹树荣．色谱，1997;15:79

2　周元平，何光耀，彭文伟．色谱，1995;13:464

3　余辉，洪青荣，张藩．色谱，1994;12:37

4　洪名欣，邹汉法，张井立．色谱，1994;12:425

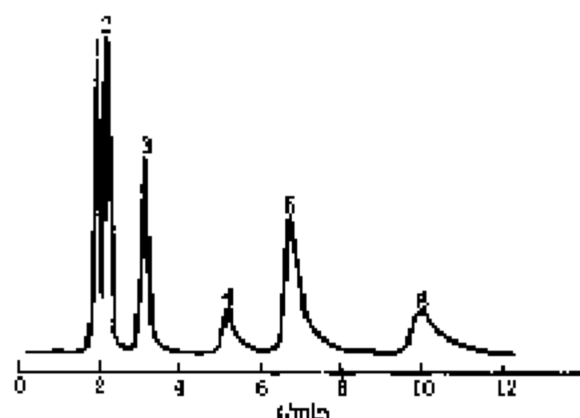
5　胡坪，孙科夫，陈卫东．色谱，1996;14:10

6　吕辉清，云自厚．色谱，1995;13:10

7 曹桂琳，吴红京，张怡 色谱，1994;12:374
8 陶学明，龙文俊，陆润玲 色谱，1995;13:269
9 徐钢顺，周树棠. 色谱. 1995;13:75
10 曹桂琳，吴红京. 色谱，1993;12:62
11 Kaufman A Chromatographia，1990，29(1/2)
12 郭治军，赵惠娟，陈卫等 色谱. 1999;17(6):606
13 Carole M，Colin E S，Anthony E F Analyst，1998;123:1522
14 Yoshida T，J Chromatogr. A，1998;811:61
15 Stab J A，et al. J Chromatogr，1992;609:195～203
16 郁秋燕，张敏. 色谱，1985;3:163
17 傅若农，李映波. 色谱，1996;14:143
18 陈丹蓉，程广西. 色谱，1997;15:269
19 张红，陈柏东，莫木良. 色谱，1997;15:266
20 Nilsson U L，Colmsjo A L. Chromatographia，1991;32:334
21 赵秋雯，张宏礼 色谱，1985;3:165
22 Cheng C A，Wu Q. J Chromatogr，1987;10(7):1359～1368
23 蒋省平，夏晨东，张乐沣 色谱，1997;15:222
24 廖德熙，陈楞，邢红霞 色谱，1993;11:253
25 张先树，文为 色谱，1997;15:347
26 金祖亮，沈晓新，陈晓军. 色谱，1992;10:158
27 黄秋开，郑子生，李兴龙等 色谱，2000;18(2):142
28 沈丽，熊博辉. 丛莉薇. 色谱，1999;17(5):427～430
29 曹量文，蒋元序. 色谱. 1997;25(5):405
30 张昌鸣，李凤英，李英等. 色谱. 1999;17(5):471
31 张春蕾，杨霞，李淋翔等. 色谱，1994;12(4):297
32 邵萍伟，陈国亮，曹建新. 色谱，1998;16(4):297～300
33 郭力，高根华，丁亿年，1996;14(3):168
34 邹汉法，张玉奎. 色谱，1996;13(5):359
35 邵元芳，刘宇新，薛昌平. 色谱，1996;14(3):218
36 黄启松，森下琴夫，矢岛静彦. 色谱，1996;14(3):176
37 施平凡，刘祥丽，张晋真 色谱，1997;15:193
38 孙定一，肖翔，陈兴芬. 色谱，1994;12:282
39 韩淇，方文奎，于春萍. 色谱，1995;13:467
40 王蕾，赵桂琼，张国宝. 色谱，1995;13:208
41 罗康，吴梅东，李杰 色谱，1992;10:376
42 袁尊仁，胡梅，许学 色谱，1995;13:464
43 Takeuchi T，J Chromatogr 1989;12(6):987
44 刘智敏，何本云 色谱，1994;12:452
45 甘纯玑，林枫. 色谱，1997;15:148
46 庞根渔，陈明星，吴江炜 色谱，1994;12:245
47 周宗樵，邹汉法，崔林华. 色谱，1998;16(3):195
48 吴红，郝琳，曹根顺 色谱，1997，15:153
49 Polverelli M，Voituriez L. J Chromatogr，1991;539:373～381
50 周得时，赵石林. 色谱，1991;9:348
51 Lemoueux L，Pion J M，Guillochon D，et al. Chromatographia，1991;38:11，12
52 叶爱玲，韩冬，赵良和 色谱，1995;13:17
53 耿立安. 高效液相色谱法纯化蛋白质理论与技术. 西安：陕西科学技术出版社，1993. 335

第十三章　生物大分子、异构体及手性化合物色谱图

第一节　蛋白质、肽和核苷色谱图



色谱峰：1—胞嘧啶；2—尿嘧啶；3—5'-胞苷单磷酸；4—5'-尿苷单磷酸；5—5'-腺苷单磷酸；6—5'-鸟苷单磷酸

色谱柱：MPS-DEA，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：0.05 mol·L⁻¹ KH_2PO_4，pH3

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

图 13-1　核苷及核苷酸混合样品分离色谱图[1]

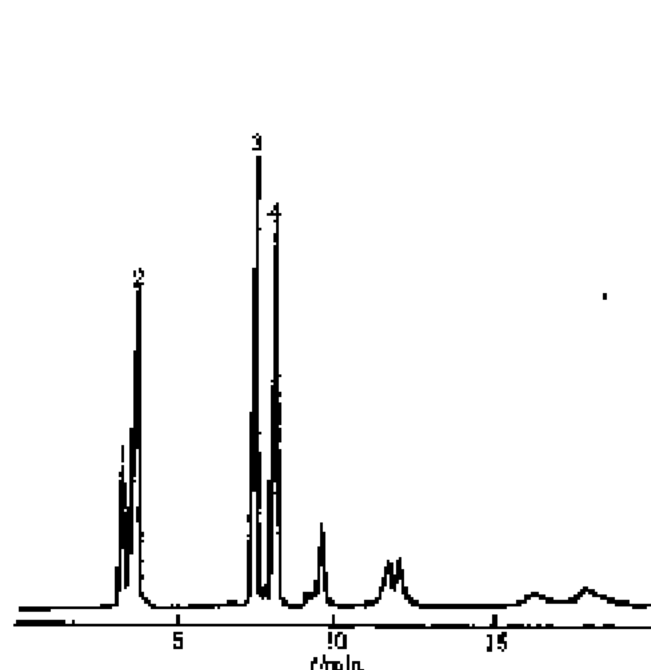


图 13-2　1'，3'-和环 2'，3'-磷酸核苷酸分离色谱图[2]

图 a 标准样品；图 b 酶 RNA 水解液；图 c 碱 RNA 水解液

色谱峰：1—2'，3'-cCMP；2—2'，3'-cAMP；3—2'，3'-cUMP；4—2'，3'-cGMP

色谱柱：NucleoPac PA 100

流动相：A 水（pH6.8）；B 磷酸氢铵（pH7.9）

梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0	3
20	20
5	[illegible]

流　速：1 ml·min⁻¹

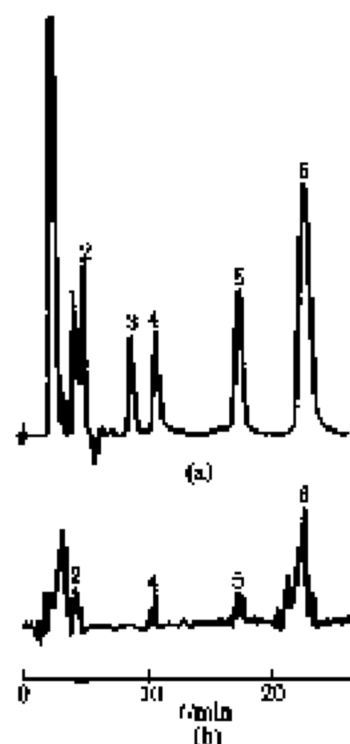


图 13-3　Ehrlich 腹水细胞核苷酸提取物中核苷酸分离色谱图[3]

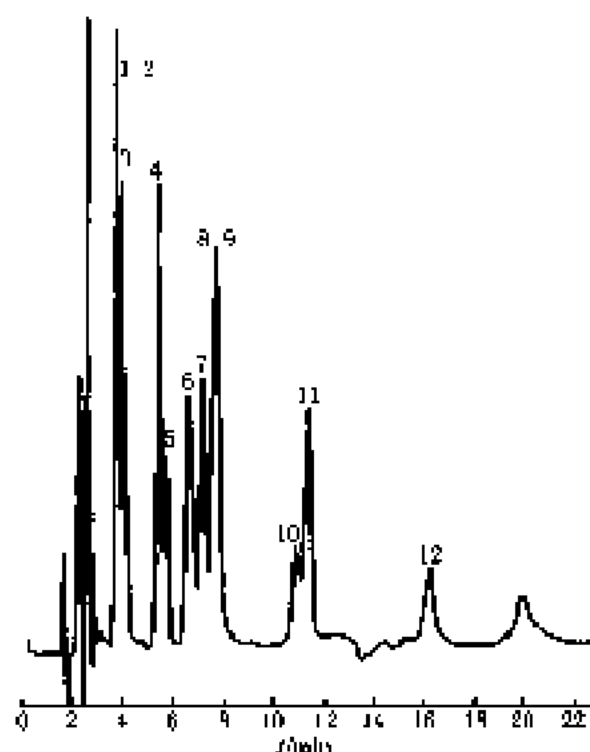
色谱峰：1—TMP+GMP；2—AMP；3—GDP；4—ADP；5—GTP；6—ATP

色谱柱：Nova-Pak C_{18}柱，100 mm×8 mm，5 μm 粒径

流动相：10 mmol·L⁻¹ $NH_4H_2PO_4$，2 mmol·L⁻¹ PIC 试剂 A，18%乙腈

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：(a) UV＝254 nm；(b) 放射检测



色谱峰：1，2—(ddG dGMP)；3—dA；4—dAMP；5—dGDP；6—ddA；7，8—mAMP，mdA；9—ddGTP；10—AZT；11—dATP；12—ddATP

色谱柱：填充 Adsorbosphere HS C_{18}，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

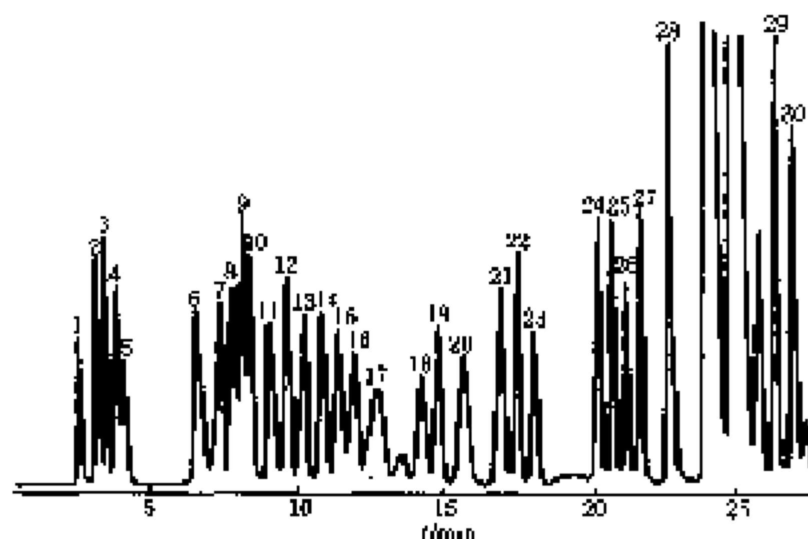
柱　温：35℃

流动相：0.05 mol·L^{-1} $(NH_4)_3PO_4$+2.0 mmol·L^{-1}TBAA+φ=7.0%乙腈

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV (258 nm)

图 13-4　13种核苷和核苷酸离子对色谱图[2]



色谱峰：1—磺酸丙氨酸；2—天冬氨酸；3—谷氨酸；4—α-氨基己二酸；5—S-羧甲基半胱氨酸；6—羟脯氨酸(HyP)；7—天冬酰胺；8—谷氨酰胺；9，10—丝氨酸；11—组氨酸；12—甘氨酸；13—Thr；14—β-Ala；15—Ala；16—牛磺酸；17—Pro；18—Tyr；19—α-氨基丁酸；20—Arg；21—高精氨酸；22—Val；23—Met；24—Ile；25—Leu；26—正亮氨酸；27—Phe；28—Lys；29—鸟氨酸；30—[illegible]

色谱柱：Spherisorb ODS 2，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：35℃

图 13-5　30种氨基酸（FMOC衍生化）色谱图[4]

流动相：溶剂A 0.02 mol·L^{-1} $(NH_4)H_2PO_4$ (pH6.5)—甲醇（体积比=85:15）
　　　　溶剂B 甲醇—水（体积比=90:10）

梯度冲洗：

t/min	φ(B)/%
0	18
2	18
5	23
10	23
20	46
21	48
25	48
28	55
29	95

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光(λ_{ex}=263 nm，λ_{em}=313 nm)

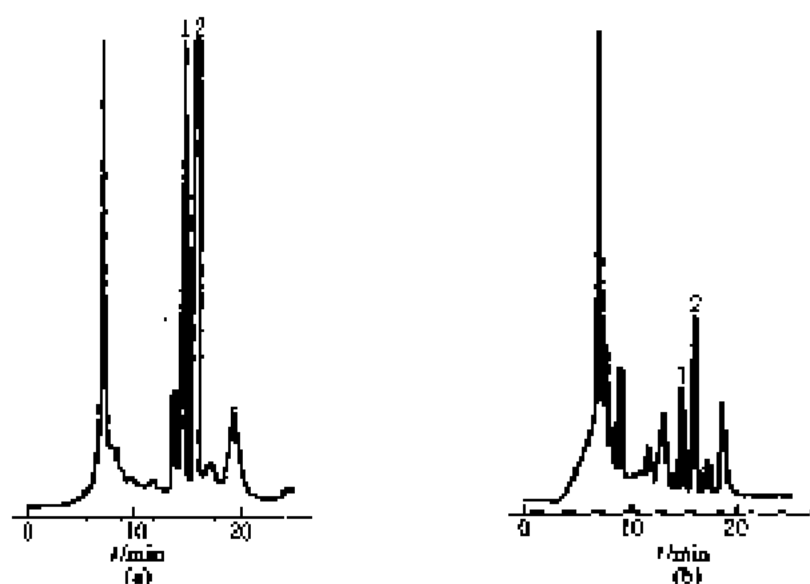


图 13-6　直肠癌症病人的尿样中 5，6-二羟尿苷和伪尿苷分离色谱图[4]

(a) 手术前；(b) 手术后

色谱峰：1—5，6-二羟基尿苷；2—伪尿苷

色谱柱：两根连在一起 Capcell 键合 C_{18} (Shiseido)，30 cm×4.6 mm

流动相：水

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：UV (230 nm)

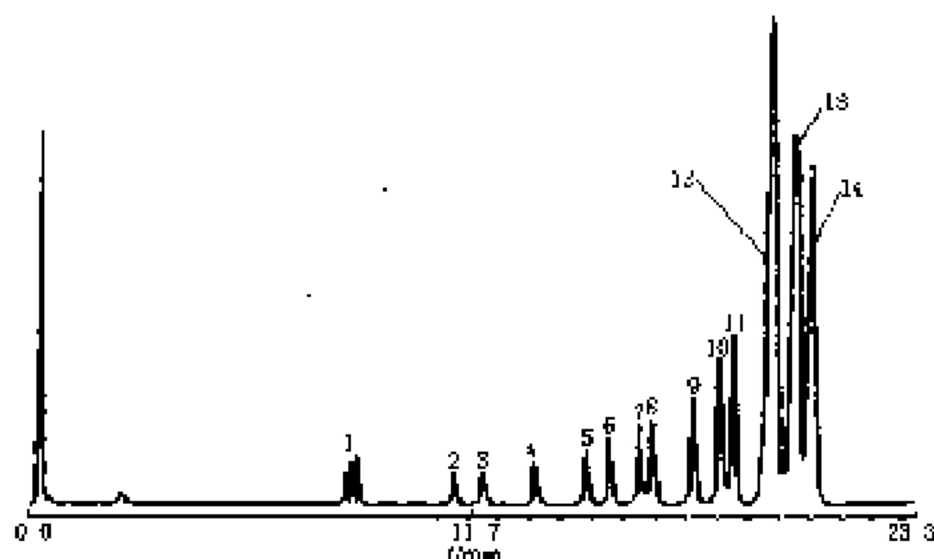


图 13-7　DNA 碎片分离色谱图[5]

色谱峰：1—bp24，bp40，bp42；2—bp48；3—bp65；4—bp82；5—bp100；6—bp118；7—bp140；8—bp151；9—bp206；10—bp249；11—bp331；12—bp413，bp417，bp427，bp500；13—563，713；14—726

色谱柱：TSK-Gel DEAE-NPR（非孔树脂）(TosoHaas)，3.5 cm×4.6 mm（内径），2.5 μm

流动相：A 25 mmol·L^{-1} Na_3PO_4 (pH7)

　　　　B 25 mmol·L^{-1} Na_3PO_4 (pH7) +1 mol·L^{-1} NaCl

线性梯度淋洗：45%B $\xrightarrow{60\ min}$ 100%B

流　速：0.8 ml·min^{-1}

温　度：室温

检测器：UV (254 nm)

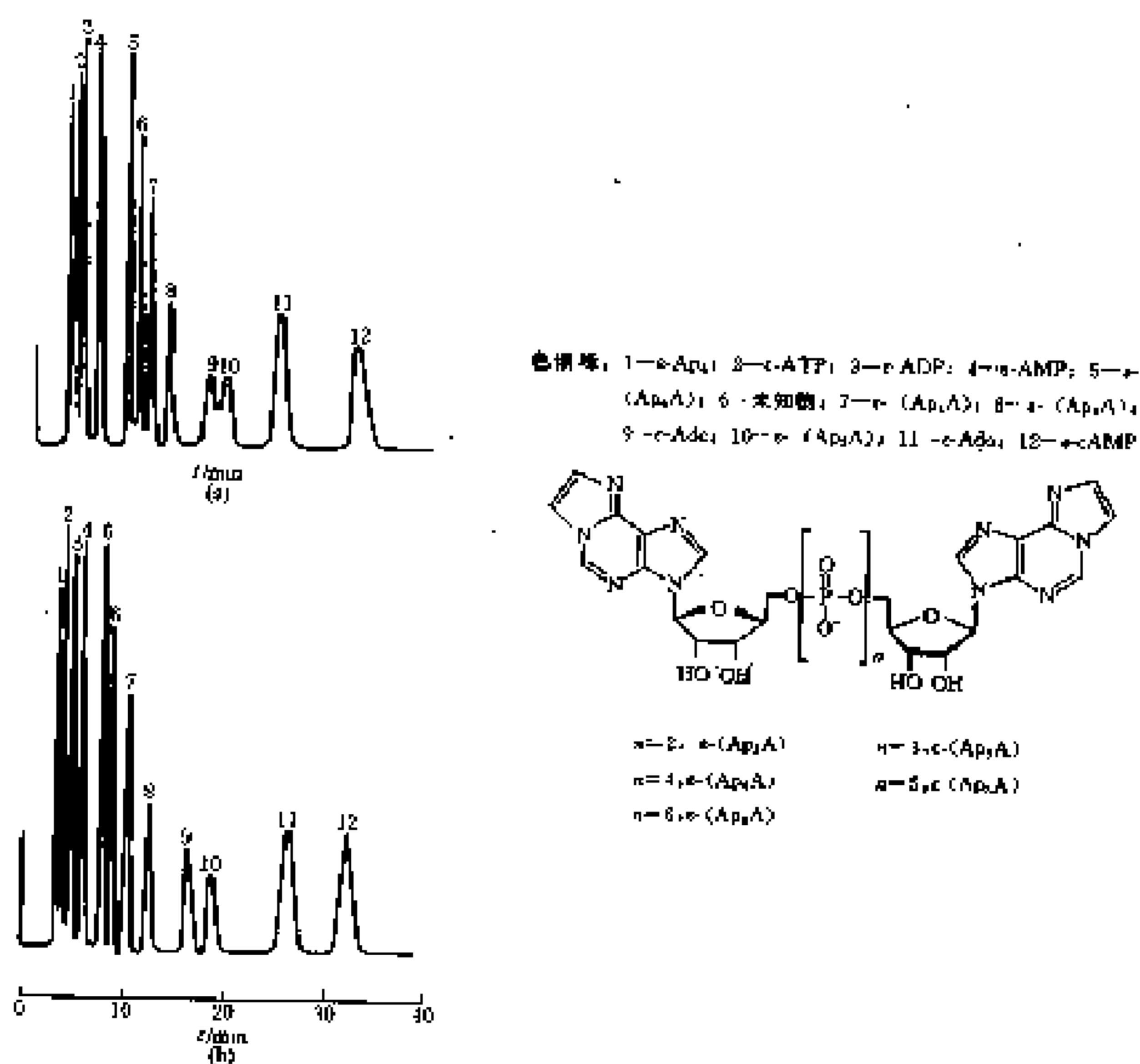


图13-8　ATP及相关化合物分离色谱图[7]

色谱柱：μ-Bondapak C_{18}

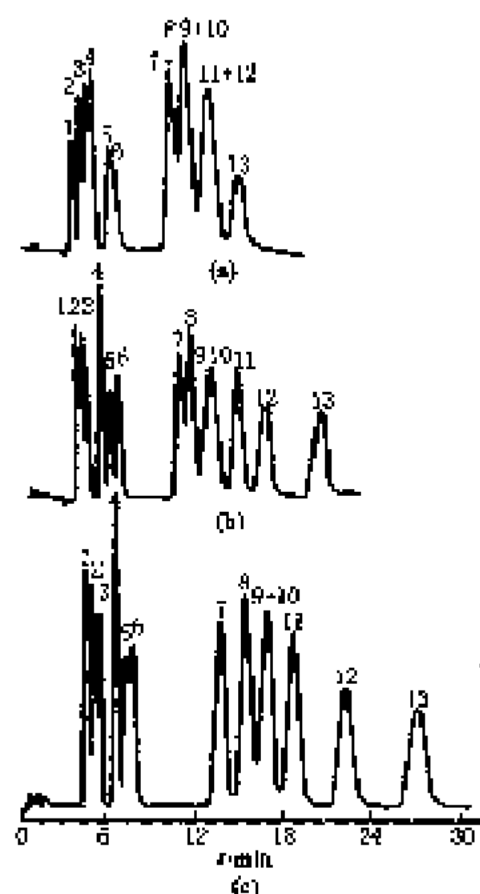
流动相：(a) KH_2PO_4 (pH6.5)＋10%甲醇；

(b) 4%乙腈

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：(a) UV (254 nm)；

(b) 荧光 (300～400 nm)



色谱峰：1—Gly-Phe；2—Gly-Leu；3—Gly-Ile；4—Gly-Met；5—Gly-Val；6—Gly-Tyr；7—Gly-Ala；8—Gly-Glu；9—Gly-Asp；10—Gly-Thr；11—Gly-Gly；12—Gly-Ser；13—Gly-Asn

色谱柱：填充 PolyHydroxyethyl A 载体，200 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：80%乙腈+TEAP（磷酸缓冲液）

(a) 40 mmol·L^{-1}（pH3.0）；

(b) 40 mmol·L^{-1}（pH2.8）；

(c) 10 mmol·L^{-1}（pH2.8）

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV（200 nm）

图 13-9　二肽标准物色谱图[8]

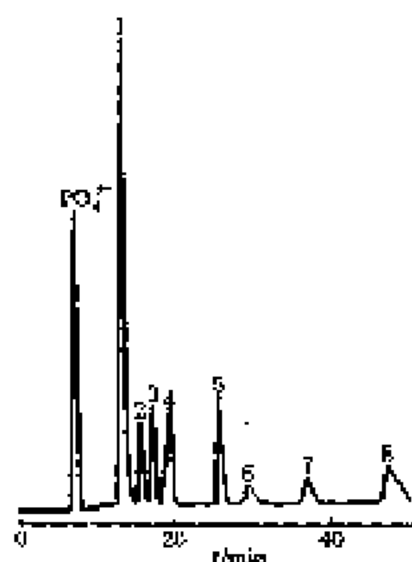


图 13-10　人工合成核苷酸分离色谱图[10]

色谱峰：1—IMP；2—AMP；3—CMP；4—ADP；5—ATP；6—TMP；7—UMP；8—GMP

色谱柱：填充 Develosil ODS 5，250 mm×4.6 mm（内径）

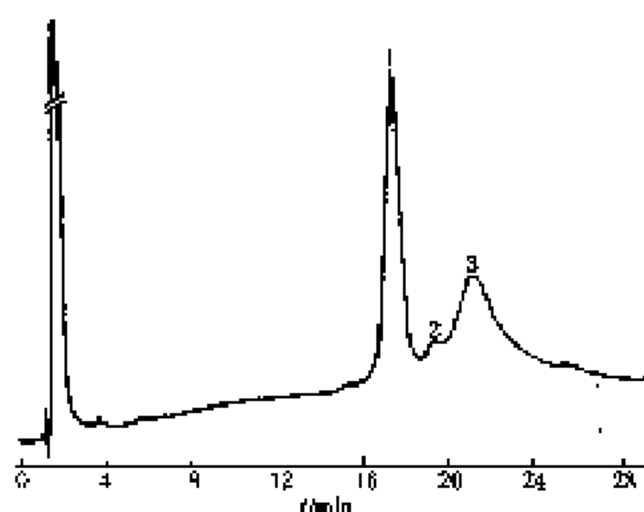
柱　温：25℃

流动相：溶剂A 磷酸盐（pH5.4）+1 mmol·L^{-1}氯化四丁胺

溶剂B 5 mmol·L^{-1}柠檬酸+乙腈（体积比=95∶2）

流　速：A，0.7 ml·min^{-1}；B，0.1 ml·min^{-1}

检测器：UV（260 nm）



色谱峰：1—清蛋白；2—转铁蛋白；3—IgG
色谱柱：填充 SUPEL COSIL LC-HINT 载体，100 mm×4.6 mm（内径），5 μm
柱　温：室温
流动相：溶剂 A 3.0 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$＋0.5 mol·L^{-1} NH_4Ac（用冰醋酸调至 pH6.0）
溶剂 B 0.5 mol·L^{-1} NH_4Ac（用冰乙酸调至 pH6.0）
线性梯度冲洗

t/min	φ/%	
	A	B
0	100	0
20	0	100
30	0	100
35	100	0
60	100	0

流　速：1 ml·min^{-1}
检测器：UV（280 nm）

图 13-11　人血清蛋白分离色谱图[11]

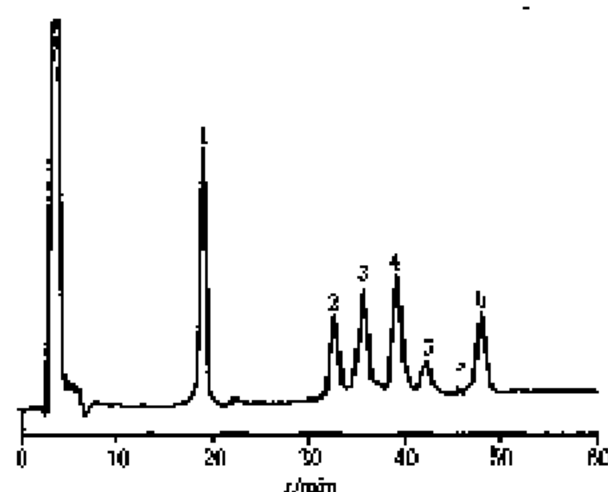


图 13-12　人血清胰岛素原分离色谱图（一）[12]

色谱峰：1—胰岛素；2—分裂（32，33）胰岛素原；3—脱（31，32）胰岛素原；4—胰岛素原；5—分裂（65，66）胰岛素原；6—脱（64，65）胰岛素原

色谱柱：Nucleosil 300-5C$_{18}$（Macherey-Nagel），25.0 cm×4.0 mm（内径），5 μm

流动相：A 0.1%三氟乙酸；

B 0.1%三氟乙酸＋60%乙腈

梯度条件：0～60 min 49%B 至 51%B

检测器：UV（210 nm）

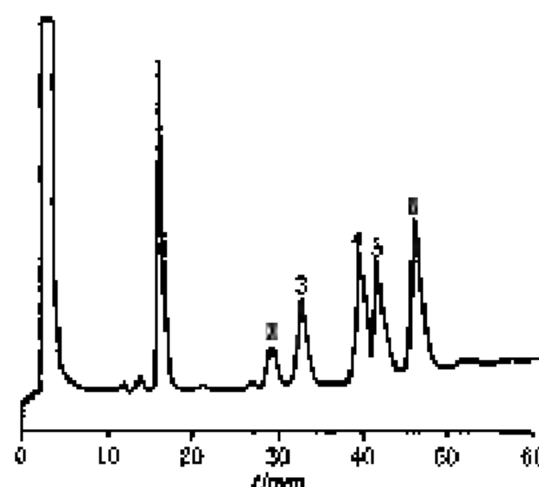


图 13-13　人血清胰岛素原分离色谱图（二）[13]

色谱峰：1—胰岛素；2—分裂（65～66）胰岛素原；3—分裂（32～33）胰岛素原；4—脱（64，65）胰岛素原；5—脱（31，32）胰岛素原；6—胰岛素原

色谱柱：LiChrosorb RP-18（Merck），25.0 cm×4.0 mm（内径），5 μm

流动相：A 0.125 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$＋22.5%乙腈（pH4.0）；

B 0.125 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$＋45.0%乙腈（pH4.0）

梯度条件：0～6 min，23%至 30%B

流　速：1.0 ml·min^{-1}

温　度：22～25℃

检测器：UV（210 nm）

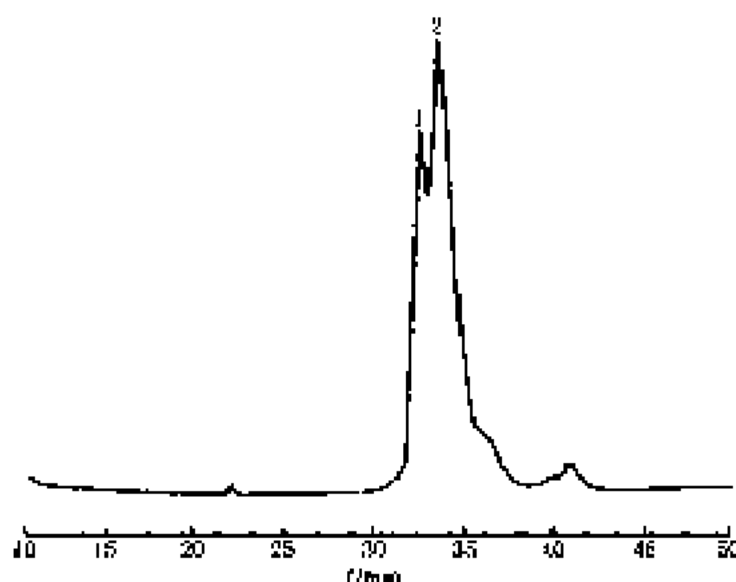


图 13-14　人体生长激素分离色谱图[16]

色谱峰：1—S-羧甲基-MetoCys 53、165、182、189 人体生长激素；
　　　　2—MetoS-羧甲基-Cys 53、165、182、189 人体生长激素
色谱柱：Vydac C_4（Separations 美国）30 nm 孔，25 cm×4.6 mm（内径），5 μm
流动相：A 0.1%三氟乙酸的 40%B 水溶液
　　　　B 0.1%三氟乙酸的乙腈
梯度洗脱：46%B $\xrightarrow{10\ min}$ 52%B $\xrightarrow{26\ min}$ 53.8%B $\xrightarrow{36\ min}$ 53.9%B $\xrightarrow{40\ min}$ 60%B $\xrightarrow{50\ min}$ 75%B
流　速：0.5 ml·min^{-1}　　　　　　　　　　温　度：35℃
检测器：UV（214 nm）

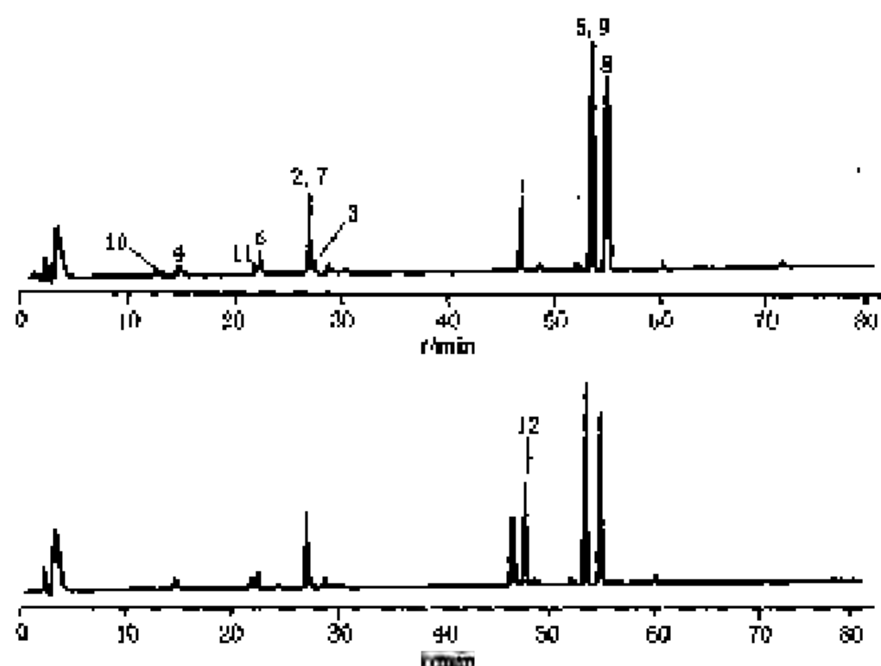
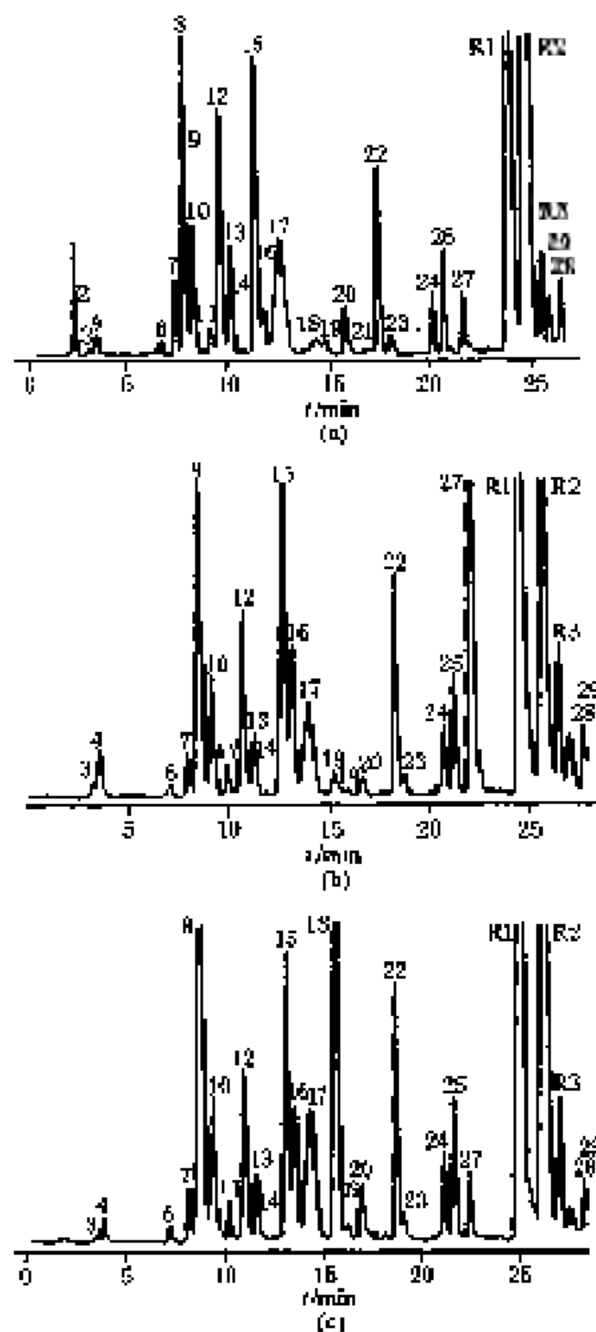


图 13-15　人体胰岛肽与合成肽 Asp^B A1～9 分离色谱图[11]

色谱峰：1—A1～9；2—A10～17；3—A18；4—A19～22；5—A23～24；6—B1～9；7—B10～13；8—B14～17；9—B18～30；10—B26～30；11—B31；12—B32～33；13—Asp^{B}T$_1$　（A、B 分别表示两链，计数为氨基酸链序）
色谱柱：Nucleosil C_{18}（Macherey-Nagel）30 nm 孔，15 cm×4.6 mm（内径），5 μm
流动相：A 0.08%三氟乙酸的 3%B 水溶液；
　　　　B 0.08%三氟乙酸的乙腈
线性梯度：54 min 内从 0%B 变至 30%B，然后在 40 min 内变至 70%B
流　速：1.0 ml·min^{-1}　　　　　　　　　　柱　温：55℃
检测器：UV（214 nm）



色谱峰：1—磺基丙氨酸；2—Asp；3—Glu；4—α-氨基己二酸；5—S-羧基甲基半胱氨酸；6—羟脯氨酸；7—Asn；8—Gln；9—瓜氨酸；10—Ser；11—His；12—Gly；13—Thr；14—β-Ala；15—Ala；16—Tau；17—Pro；18—Tyr；19—α-氨基丁酸；20—Arg；21—高胱氨酸；22—Val；23—Met；24—Ile；25—Leu；26—正亮氨酸；27—Phe；28—鸟氨酸；29—Lys

色谱柱：150 mm×4.6 mm（内径），填充 Spherisorb 3 μm ODS

保护柱：15 mm × 3.2 mm（内径），Brownlee Newguard 7 μm ODS

流动相：溶剂 A 0.02 mol·L^{-1} $(NH_4)H_2PO_4$（pH6.5）+甲醇（体积比=85∶15）
溶剂 B 甲醇+水（体积比=90∶10）

梯度冲洗：

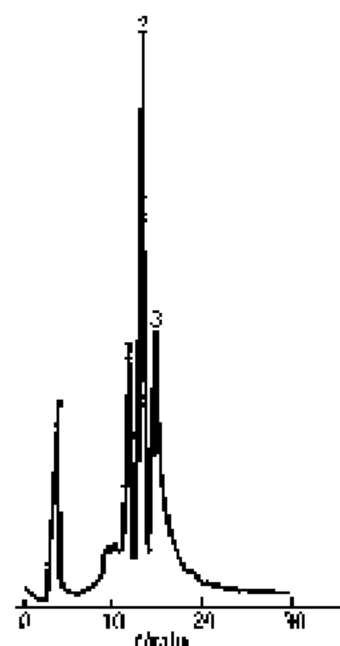
t/min	φ(B)/%
0	18
2	18
3	23
10	23
20	36
27	48
26	48
28	55
29	99

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光，λ_{ex}=263 nm，λ_{em}=313 nm

图 13-16　3 种脱蛋白人血浆（FMOC 衍生化）色谱图[4]

（a）正常成人血浆；（b）患有苯丙酮酸尿症成人血浆；（c）4 岁小童患有高胱氨酸尿症的血浆



色谱峰：1—核糖核酸酶A；2—胰岛素；3—舒缓激肽

色谱柱：填充PRP-3（Hamilton）载体，50 mm×4.1 mm（内径），10 μm

柱　温：室温

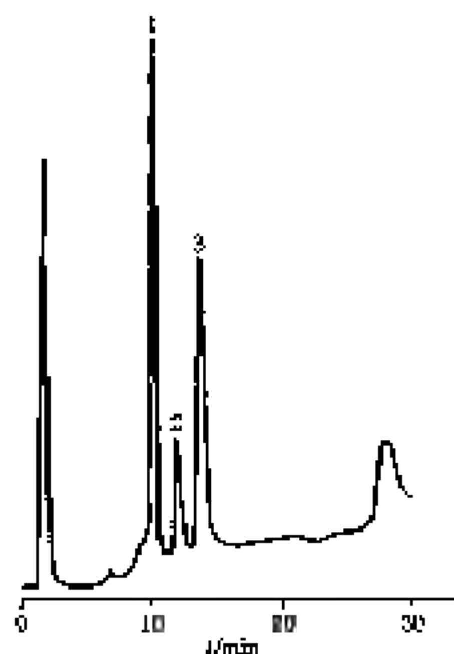
流动相：溶剂A 50 mmol·L^{-1}NaOH+0.1%三氟乙酸水溶液；

　　　　溶剂B 0.1%三氟乙酸/乙腈

线性梯度冲洗：5%B $\xrightarrow{30\ min}$ 50%B

流　速：0.5 ml·min^{-1}　　　检测器：UV（220 nm）

图 13-17　胰岛素、舒缓激肽和核糖核酸酶A分离色谱图（一）[15]



色谱峰：1—舒缓激肽；2—核糖核酸酶A；3—胰岛素

色谱柱：填充PRP-3（Hamilton）载体，50 mm×4.1 mm（内径），

　　　　10 μm

柱　温：室温

流动相：溶剂A 0.1%三氟乙酸+水（pH2.0）；

　　　　溶剂B 0.1%三氟乙酸+乙腈

线性梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{30\ min}$ 50%B

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（215 nm）

图 13-18　胰岛素、舒缓激肽和核糖核酸酶A分离色谱图（二）[16]

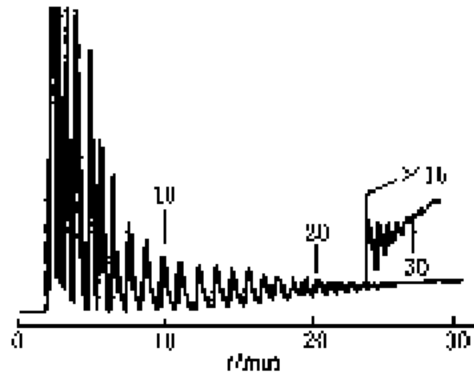


图 13-19 聚腺嘌呤核苷酸的部分酶水解色谱图（一）[illegible]

色谱峰：聚腺嘌呤核苷酸

色谱柱：氧化硅，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：溶剂 A 0.1 mol·L^{-1} 乙酸铵

溶剂 B 10%乙腈水溶液

梯度冲洗 5%B $\xrightarrow{60\ min}$ 50%B

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

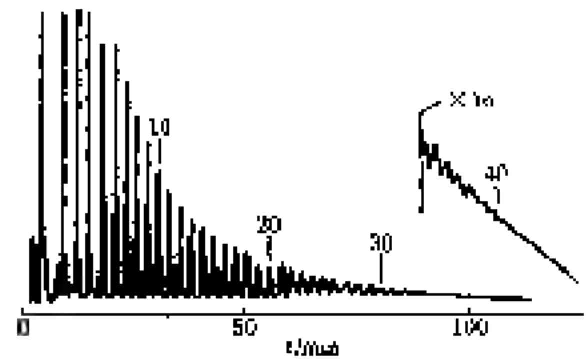


图 13-20 聚腺嘌呤核苷酸部分酶水解色谱图（二）[illegible]

色谱峰：聚腺嘌呤核苷酸

色谱柱：TOMC 氧化硅胶

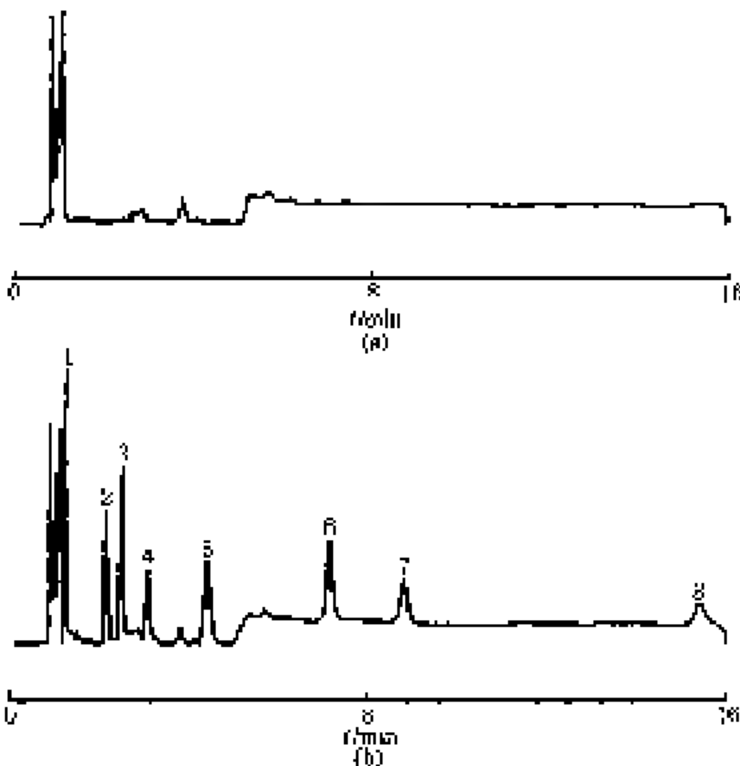
流动相 溶剂 A 10 mmol·L^{-1} $NaClO_4$ + 10 mmol·L^{-1} 三乙醇胺缓冲液（pH7.5）+1 mmol·L^{-1} Na_2EDTA

溶剂 B 0.5 mol·L^{-1} $NaClO_4$ + 10 mmol·L^{-1} 三乙醇胺缓冲液（pH7.5）+1 mmol·L^{-1} EDTA

线性梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{150\ min}$ 100%B

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（260 nm）



色谱峰：1—磺胺；2—磺胺噻唑；3—磺胺嘧啶；4—磺胺二甲基嘧啶；5—磺胺二甲噁唑；6—Sulfamethoxazole；7—磺胺异噁唑；8—磺胺二甲氧嘧啶

色谱柱：填充 Supelcosil LC-18 DB 柱体，75 mm×4.6 mm（内径），3μm

柱　温：室温

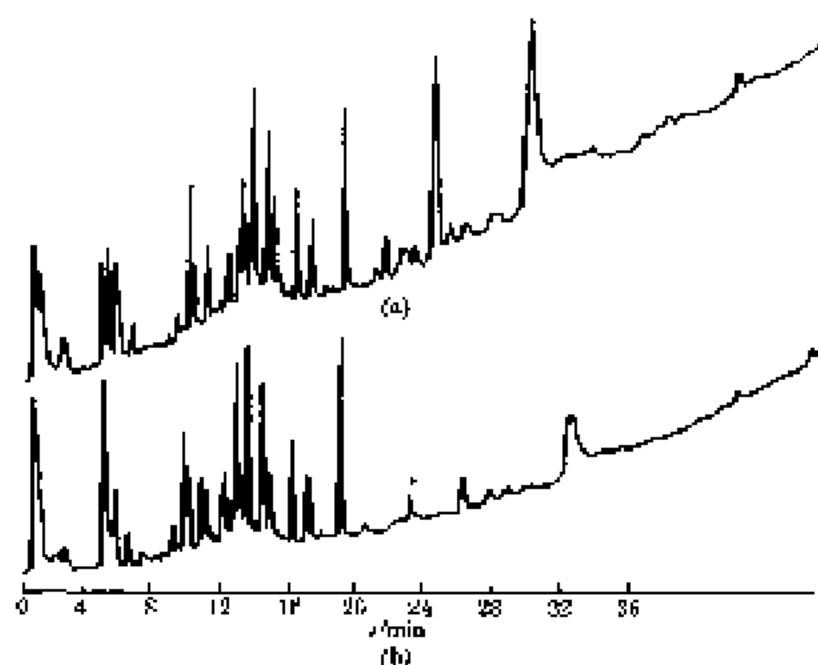
流动相：0.017 mol·L^{-1} 磷酸/乙腈（体积 90:10）

流　速：2 ml·min^{-1} $\xrightarrow{5\ min}$ 1 ml·min^{-1} → 2 ml·min^{-1} $\xrightarrow{5\ min}$ [illegible] ml·min^{-1} $\xrightarrow{10\ min}$

检测器：二极管阵列（270 nm）

图 13-21 牛奶的二氯甲烷萃取物分离色谱图[illegible]

(a)空白牛奶；(b)用标准磺胺类(250ng·ml^{-1})和内标物磺胺二甲基嘧啶(25 ng·ml^{-1})强化的牛奶



色谱峰：牛血清蛋白代谢物

色谱柱：50 mm×4.6 mm(内径)
(a)SUPELCOSIL LC-304，5 μm；
(b)SUPELCOSIL LC-308，5 μm

样　品：蛋白

流动相：溶剂A 蒸馏水＋三氟乙酸(体积比＝1000＋1)
溶剂B 乙腈＋蒸馏水＋三氟乙酸(体积比＝800＋200＋0.9)

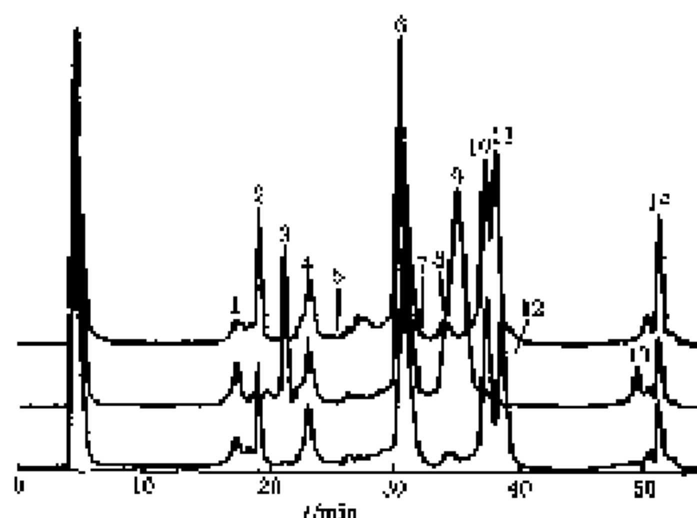
线性梯度冲洗：

时间/min	φ/% A	φ/% B
0	90	10
60	0	100
70	0	100
70.1	90	10

流　速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：UV (220 nm)

图 13-22　牛血清蛋白代谢物分离色谱图[13]



色谱峰：1—K-酪蛋白A＋—B(糖基)；2—K-酪蛋白A(糖-自由)；3—K-酪蛋白B(糖-自由)；4—αs2-酪蛋白A；5—αs1-酪蛋白A(只指出位置)；6—αs1-酪蛋白B＋-C；7—αs1-酪蛋白D(只指出位置)；8—α-乳清蛋白；9—β-酪蛋白B；10—β-酪蛋白A1；11—β-酪蛋白A2；12—β-酪蛋白A3；13—β-乳球蛋白B；14—β-乳球蛋白A

图 13-23　牛血清蛋白遗传变体的分离色谱图[19]

色谱柱：HiPore RP-318 (C_{18})(Bio-Rad)，25.0 cm×4.6 mm(内径)，5 μm

流动相：A 乙腈＋水＋三氟乙酸(体积比＝10＋90＋0.1)；
B 乙腈＋水＋三氟乙酸(体积比＝90＋10＋0.07)

梯度条件：15 min 26%B 至 35%B 保持 7 min，3 min 35%B 至 37%B 保持 7 min，18 min 37%B 至 45%B 保持 5 min 至 70%B

流　速：0.8 ml·min⁻¹

温　度：30℃

检测器：UV (220 nm)

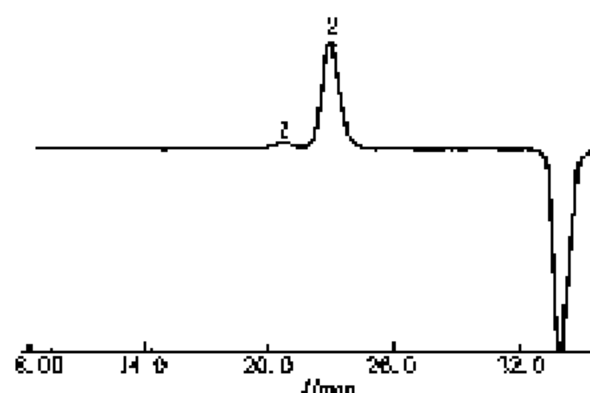


图 13-24　牛血清蛋白色谱图[20]

色谱峰：1—二聚体；2—单体

色谱柱：TSK-凝胶 G3000SW

流动相：10 μm 磷酸钠 (pH7.0)

流　速：0.5 ml·mmn^{-1}

温　度：25℃

检测器：差示折光计

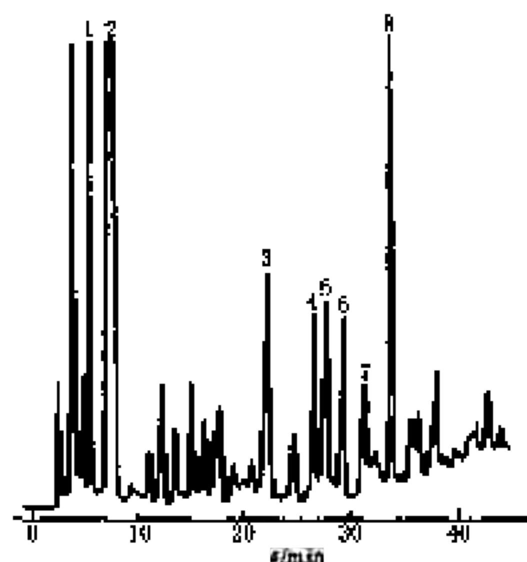


图 13-25　正常人尿样中核苷分离色谱图（一）[4]

色谱峰：1—甲基腺苷；2—假尿苷；3—1-核糖吡啶-4-酮基-3-羧基酰胺；4—1-甲基肌苷；5—1-甲基鸟苷；6—N^2-甲基鸟苷；7—腺苷；8—N^2、N^2-二甲基鸟苷

色谱柱：Develosil 键合 C_{18} (Nomura Chemical)，30 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 水；B 甲醇

梯度洗脱：

时间/min	φ(B)/%
0	0
25	13
40	40

流　速：1.1 ml·mmn^{-1}

检测器：UV (260 nm)

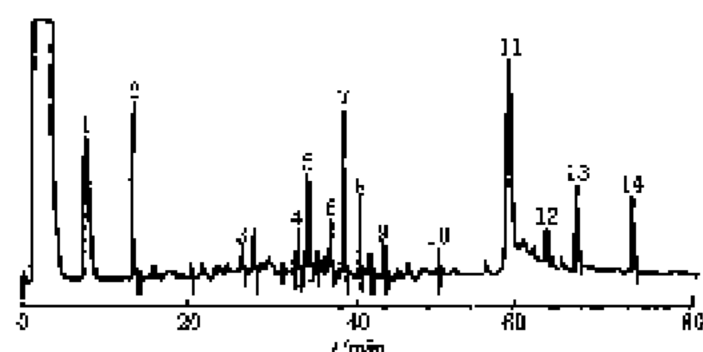


图 13-26 正常人尿样中核苷分离色谱图（二）[22]

色谱峰：1—二硫苏糖醇；2—自断裂物；3—RANNQVGLAPVA；4—SSYYTGSL；5—NWVPVYVE；6—GSCISGPQGMNLPTESGE；7—XVPSVYASSLAKTNFDXFNP；8—VDEQPLENYLDME；9—TGSSNLWVPSVYXSSLAKTNXNXFNP；10—YYAPFDGILG（42.56）；11—YFGTIGJGTPAQDPTVVPDT·GSSNLWVPSVYCS；12—XXPGSFLYYAPFDXXLXLAY；13—LWILGDVFIRQYFXVFDRANNQVGLAPVA；14—GSXISGPQGMNLPTESGEXILGDVPIKQYPTVFD

色谱柱：填充 Excel 30 nm C_{18}，150 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：溶剂 A 为 0.1%三氟乙酸+水（体积比=0.1∶99.9）

溶剂 B 为溶剂 A+乙腈（体积比=40∶60）

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（280 nm）

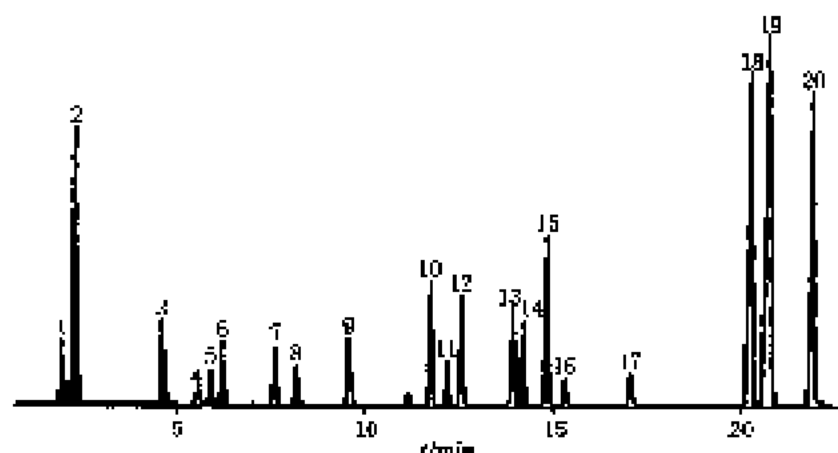


图 13-27 奶酪水解液中氨基酸色谱图[24]

色谱峰：1—ASX；2—GLX；3—SER；4—HIS；5—GLY；6—THR；7—ALA；8—ARG；9—TYR；10—VAL；11—MET；12—NVA；13—ILE；14—PHE；15—LEU；16—LYS；17—LYS；18—SAR；19—PRO；20—PICR

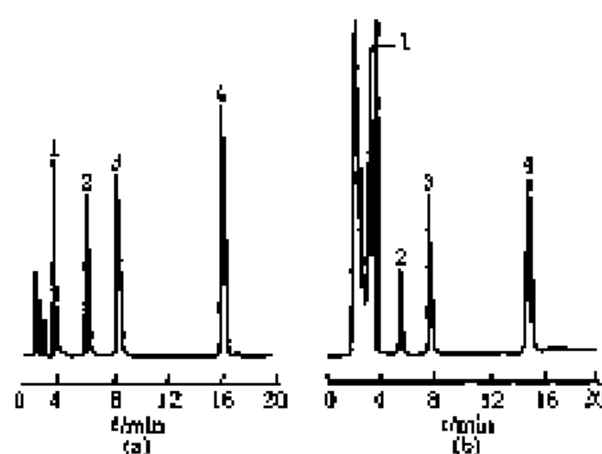
色谱柱：Hewlett Packard Type 1090M

流动相：溶剂 A 为 30 mmol·L^{-1} NaOAc（pH7.8）—0.25%THF+0.1 mol·L^{-1} Titriplex Ⅲ，溶剂 B 为 100 mmol·L^{-1} NaOAc（pH7.8）+50%乙腈+0.1 mol·L^{-1} Titriplex Ⅲ

线性梯度冲洗：3.0%B $\xrightarrow{20\ min}$ 40%B $\xrightarrow{4\ min}$ 100%B

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：荧光检测器（λ_{ex}=340 nm，λ_{em}=455 nm）



色谱峰：1—dCMP；2—dGMP；3—dTMP；4—dAMP

色谱柱：Ultrasphere-5 ODS，150 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：乙腈＋0.1 mol·L^{-1} KH_2PO_4（pH4.5）

线性梯度冲洗：0%乙腈 $\xrightarrow{9\ min}$ 6%乙腈 $\xrightarrow{21\ min}$ 35%乙腈

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：二极管矩阵紫外，(a) λ=260 nm；(b) λ=215 nm

图 13-28　白细胞中 5'-单磷酸-脱氧核苷色谱图[33]

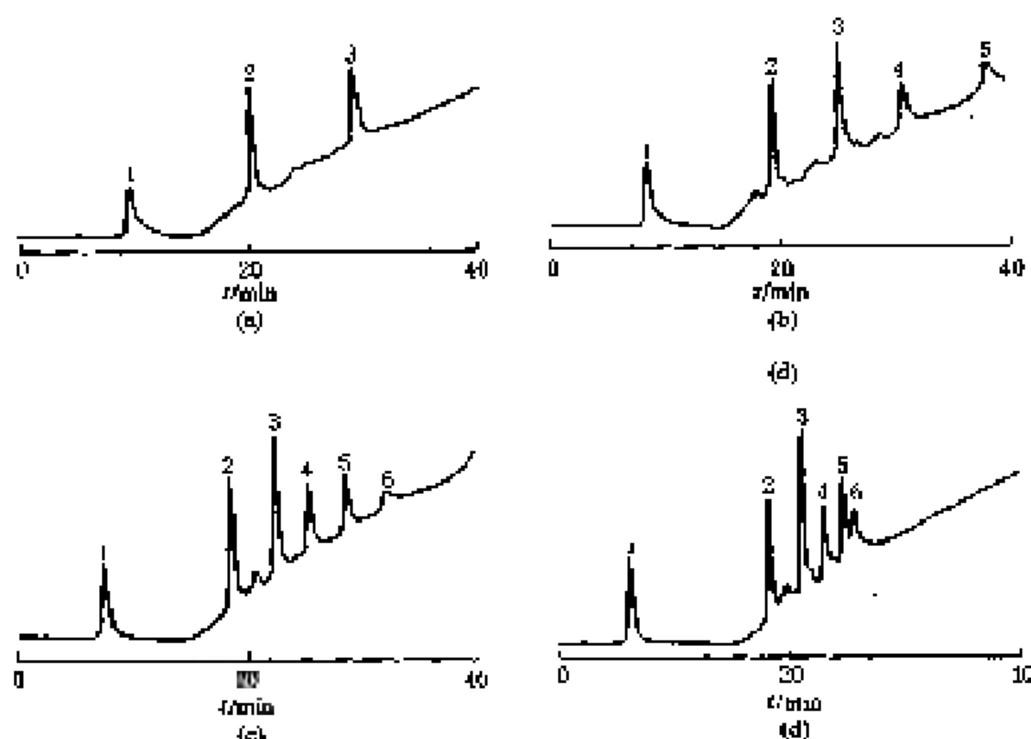


图 13-29　合成小肽强阳离子交换色谱分离谱图[18]

色谱峰：Ac-(Leu-Gly-Leu-Lys-Ala)$_n$-NH_2

　　1—n=1；2—n=2；3—n=4；4—n=6；5—n=8；6—n=10

色谱柱：填充 SynChropak S300 载体，250 mm×4.1 mm（内径）

柱　温：26℃

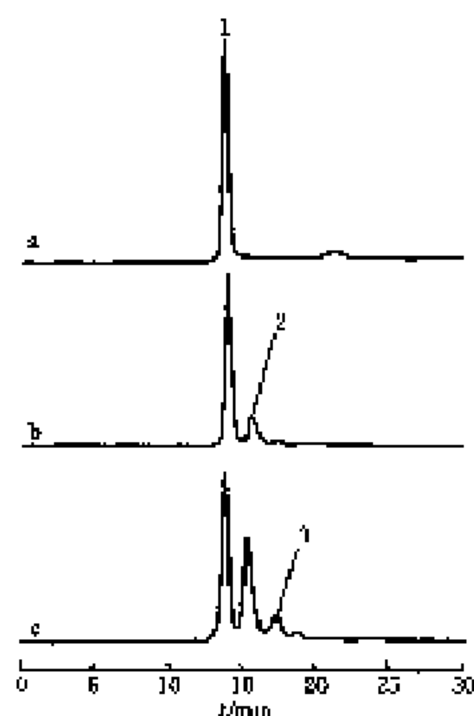
流动相：溶剂 A 5 mmol·L^{-1} KH_2PO_4（pH6.5）

　　溶剂 B 溶剂 A＋0.5 mol·L^{-1} NaCl

　　两种溶剂都含有乙腈，(a)—(d) 浓度（体积分数）分别为 30%，20%，20%和 40%

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：HP 1040A



色谱峰：1—hGH；2、3—desamido衍生物

色谱柱：proEX-DEAE

柱　温：25℃

流动相：A 20 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH8.0)

B 溶剂 A+0.5 mol·L⁻¹ NaCl

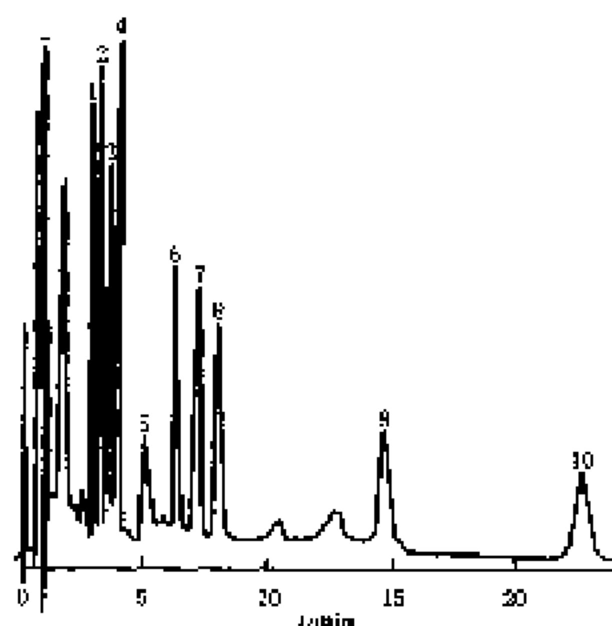
5%～70%B 梯度冲洗 30 min 以上

流　速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：UV (280 nm)

图 13-30　hGH重组体和脱酰胺类异构重组体阴离子交换色谱图[23]

(a) 无热处理的hGH；(b) 60℃ 6h 热处理；(c) 70℃ 6h 热处理



色谱峰：1—强的松；2—可的松；3—氢化泼尼松；4—氢化可的松；5—18-羟基脱氧皮质酮；6—皮质酮；7—地塞米松；8—11-脱氧氢化可的松；9—11-脱氢皮质酮；10—17-羟基黄体酮

色谱柱：填充 Zorbax C_8 载体，80 mm×6.2 mm (内径)，3 μm

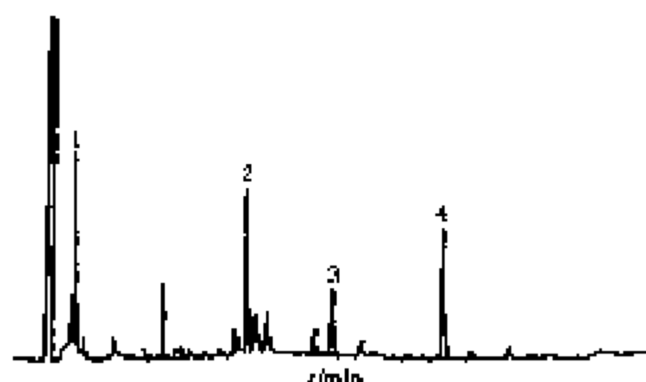
柱　温：50℃

流动相：水+THF+乙腈(体积比=77∶12∶11)，等度冲洗

流　速：2.5 ml·min⁻¹

检测器：UV (242 nm)

图 13-31　血清中甾类化合物分离色谱图[14]



色谱峰：1—舒缓激肽；2—COOH—[MET—ARG]—NH_2；3—[illegible]；4—COOH—[MET—ASP]—NH_2

色谱柱：Nova Pak C_{18}，4 μm，2.1 mm（内径）×150 mm

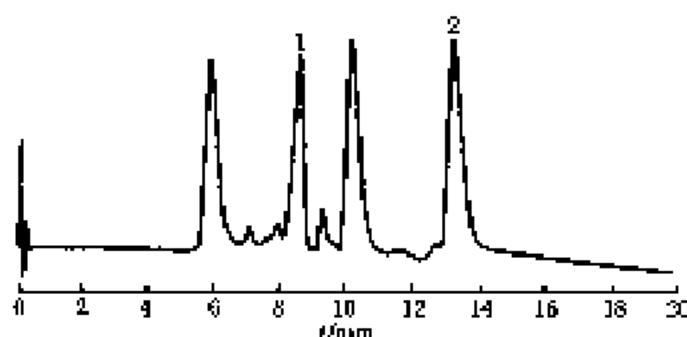
流动相：乙腈-水+0.1%TFA

线性冲洗：20%乙腈 $\xrightarrow{90\ \text{min}}$ 60%乙腈

柱 温：室温

检测器：紫外二极管阵列（200 nm）

图 13-32 血浆中舒缓激肽等分离色谱图[3]



色谱峰：1—溶菌酶；2—卵清蛋白

色谱柱：填充Supelguard LC-304 30 mm 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱 温：40℃

流动相：溶剂A 乙腈+0.1%三氟乙酸（体积比=10∶90）

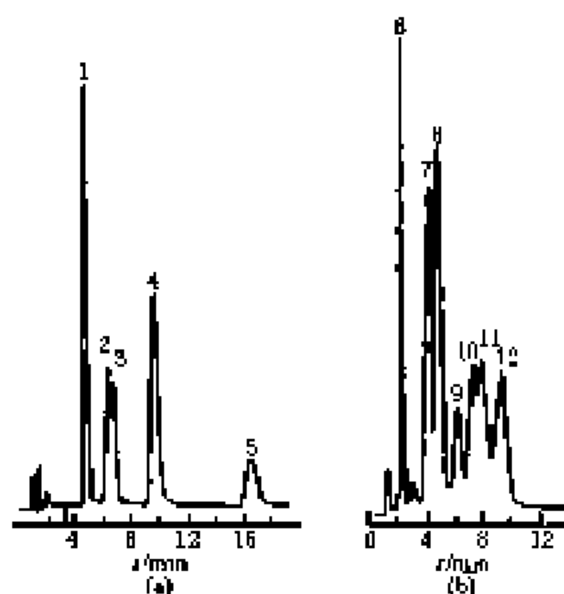
溶剂B 乙腈+0.1%三氟乙酸（体积比=90∶10）

线性梯度冲洗：5%B $\xrightarrow{15\ \text{min}}$ 60%B $\xrightarrow{5\ \text{min}}$ 60%B $\xrightarrow{2\ \text{min}}$ 5%B

流 速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV（215 nm）

图 13-33 鸡蛋白蛋白分离色谱图[3]



色谱峰①：1—Asp-Val；2—Val-Asp；3—Tyr-Gly-Gly-Tyr；4—Glu-Ala-Glu；5—Glu-Ala-Glu-Asn；6—催产素；7—[Tyr^1]-SRIH；8—SRIH；9—[TYR^{11}]-SRIH；10—[Des-Glu]-P物质；11—P物质；12—[Arg^8]-抗利尿激素

① SRIH—生长激素释放抑制因子；TEAP—磷酸三乙胺

色谱柱：细孔 PolyHydroxyethyl A 载体，200 mm×4.6 mm（内径）

柱 温：室温

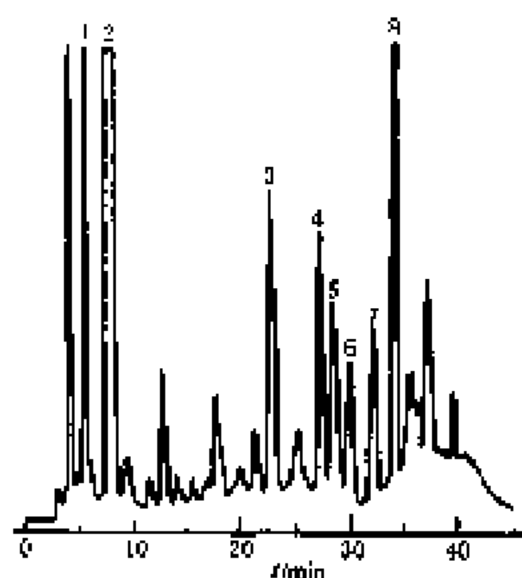
流动相：40 mmol·L^{-1}TEAP（pH2.8）—乙腈

(a) 80%乙腈，(b) 70%乙腈

流 速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV（200 nm）

图 13-34 肽标准物（等度冲洗）色谱图[3]



色谱峰：1—甲基腺苷；2—伪尿苷；3—1-核糖吡啶-4-酮-3-羧基酰胺；4—1-甲基肌苷；5—1-甲基鸟苷；6—N^2-甲基鸟苷；7—腺苷；8—N^2,N^2-二甲基鸟苷

色谱柱：Develosil 键合 C_{18} (Nomura Chemical)，30 cm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：A 水；B 甲醇

梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%
0	0
25	12
40	40

流　速：1.1 ml·min⁻¹

检测器：UV（260 nm）

图 13-35　肺癌病人的尿核苷分离色谱图[4]

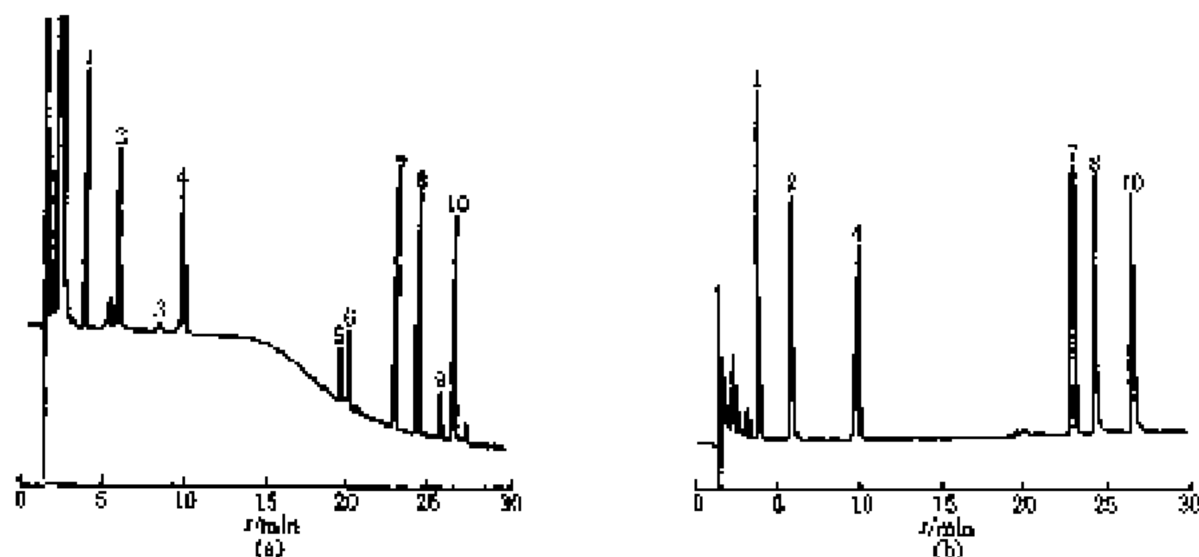


图 13-36　MEA 混合物分离色谱图[illegible]

色谱峰①：1—Tyr；2—Tyr-D-Ala-Gly；3—Phe；4—Tyr-D-Ala；5—Phe-Met；6—D-Ala-Gly-Phe-Met-NH_2；7—Tyr-D-Ala-Gly-Phe；8—MEA；9—SCH 39370；10—ME

①MEA 代表 [D-Ala²]-Met 脑啡肽酰胺

色谱柱：填充 Kromasil C_8，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：溶剂 A 35 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH2.5）

溶剂 B 35 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH2.5）＋乙腈（体积比＝60：40）

梯度冲洗：4%乙腈增至5%，9 min 增到 15% 5 min，最后增到 30% 21 min

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：(a) UV（205 nm）；

(b) ED（0.60V）

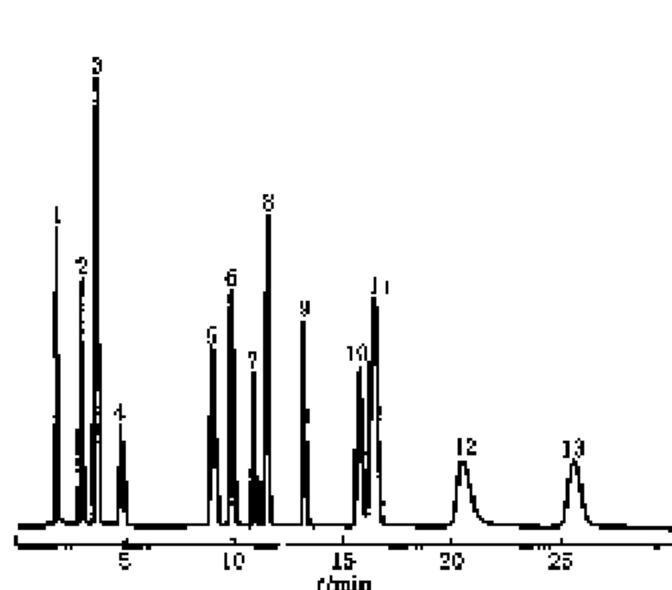


图 13-37 核苷酸分离色谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—单磷酸胞苷（CMP）；2—单磷酸尿苷（UMP）；3—单磷酸腺苷（AMP）；4—二磷酸胞苷；5—单磷酸鸟苷（GMP）；6—UDP；7—CTP；8—ADP；9—UTP；10—GDP；11—ATP；12—3',5'-CGMP；13—GTP

色谱柱：Propac PA1，10 μm

流动相：a. 水（pH6.8）；

b. 0.3 mol·L^{-1}氯化钠（pH8.9）

梯度冲洗：50%B $\xrightarrow{5\ min}$ 50%B $\xrightarrow{5\ min}$ 100%B $\xrightarrow{25\ min}$ 100%B $\xrightarrow{5\ min}$ 50%B

流速：1 ml·min^{-1}

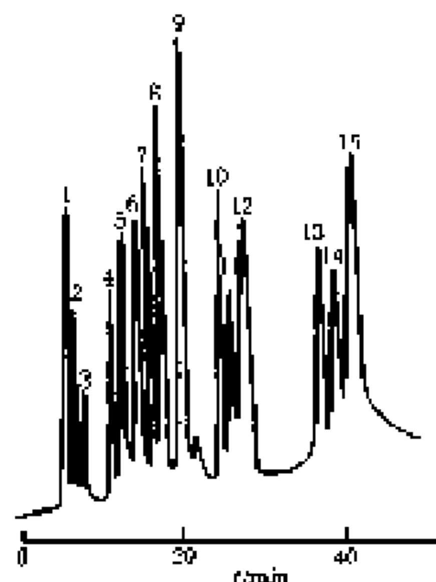


图 13-38 核苷酸分离色谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—次黄嘌呤；2—黄嘌呤；3—尿酸；4—肌苷；5—腺嘌呤；6—腺苷；7—NAD；8—IMP；9—AMP；10—GDP；11—UDP；12—ADP；13—GTP；14—UTP；15—ATP

色谱柱：填充 Supelcosil LC-18-DB 颗粒，150 mm×4.6 mm（内径）

流动相：溶剂 A 为 10 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$—2 mmol·L^{-1} PIC，溶剂 B 为溶剂 A+30%（体积分数）乙腈

梯度冲洗：0%B $\xrightarrow[\text{线性梯度}]{5\ min}$ 70%B $\xrightarrow[\text{凸面线梯度}]{35\ min}$ 100%B

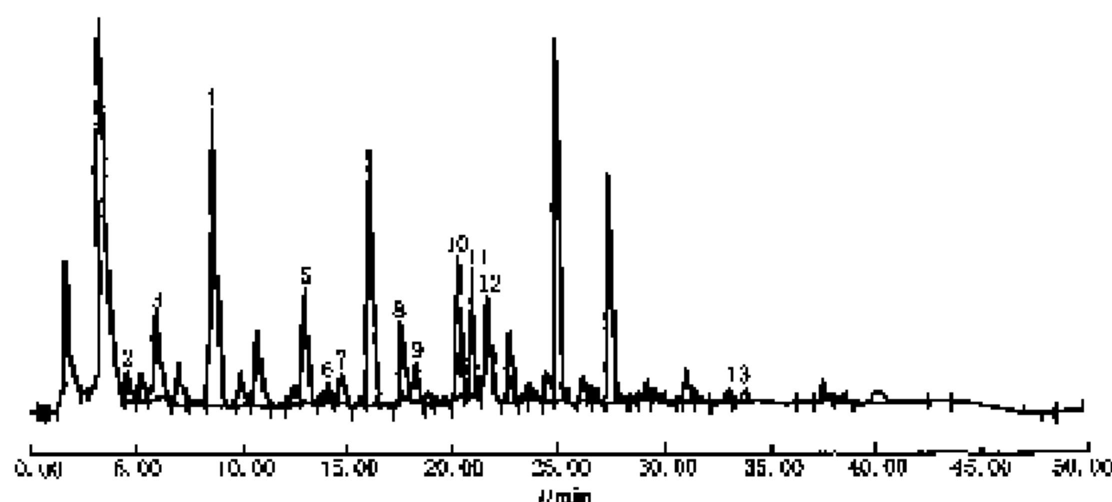


图 13-39 核苷酸分离色谱图（三）[illegible]

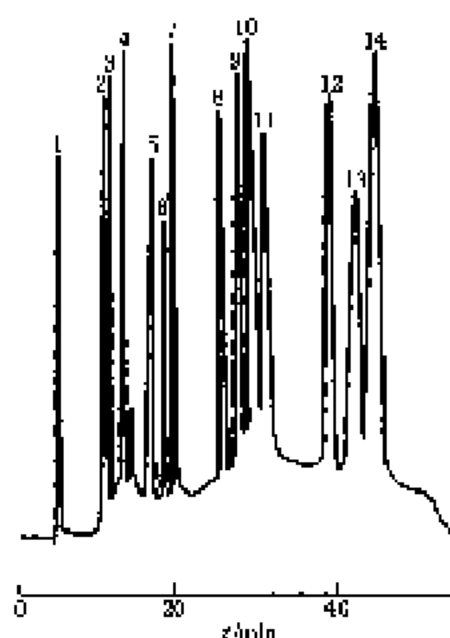
色谱峰：1—假尿苷；2—胞苷；3—尿苷；4—1-甲基腺苷；5—异鸟苷；6—肌苷；7—鸟苷；8—黄苷；9—3-甲基尿苷；10—1-甲基肌苷；11—1-甲基鸟苷；12—腺苷；13—5'-脱氧-5'-甲硫腺苷

色谱柱：LiChrospher 100 C_{18}，250 mm×4 mm（内径），5 μm

柱温：室温

流动相：100% 25 mmol·L^{-1} KH_2PO_4，pH4.7 冲洗，然后 60%甲醇+水（3+2 体积分数）40 min

检测器：UV



色谱峰：1—次黄嘌呤；2—肌苷；3—鸟苷；4—腺苷；5—IMP；6—GMP；7—AMP；8—GDP；9—UDP；10—ADP；11—CTP；12—GTP；13—UTP；14—ATP

色谱柱：Spherisorb ODS，250mm×4.6mm（内径）

流动相：溶剂A 10 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$+2mmol·L^{-1}磷酸四丁铵，溶剂B为溶剂A+乙腈（20%体积分数）

梯度冲洗：$0\%B \xrightarrow{5\ min} 0\%B \xrightarrow{12\ min} 80\%B \xrightarrow{55\ min} 80\%B \xrightarrow{5\ min} 100\%B \xrightarrow{2\ min} 0\%B$

流速：1.3 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

图 13-40 核苷酸、核苷分离色谱图（一）

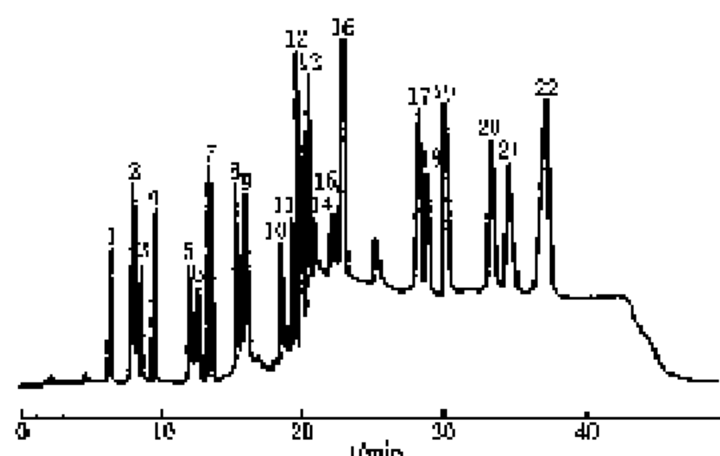


图 13-41 核苷酸、核苷分离色谱图（二）

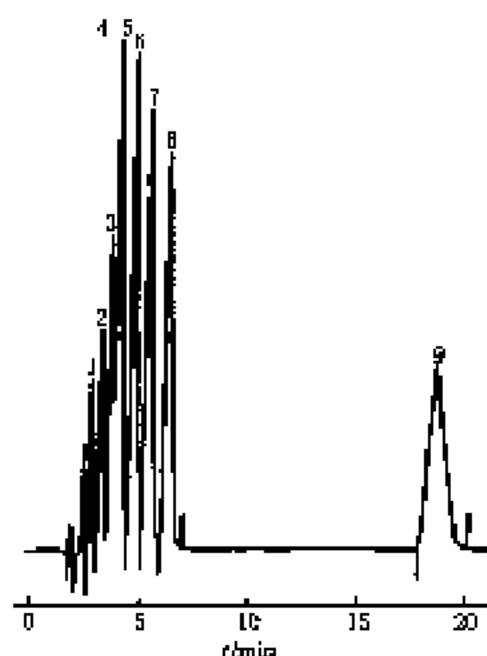
色谱峰：1—尿嘧啶；2—次黄嘌呤；3—尿苷；4—黄嘌呤；5—氧化嘌呤醇；6—别嘌呤醇；7—尿酸；8—肌苷；9—鸟苷；10—腺嘌呤；11—腺苷；12—NAD^+；13—IMP；14—GMP；15—UMP；16—AMP；17—GDP；18—UDP；19—ADP；20—GTP；21—UTP；22—ATP

色谱柱：填充C_{18} Si-X-S 硅胶，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：溶剂A为10 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$+2 mmol·L^{-1} PIC，溶剂B为溶剂A+20%（体积分数）乙腈

梯度冲洗：$0\%B \xrightarrow[\text{凸面梯度}]{12\ min} 80\%B \xrightarrow[\text{等梯度}]{25\ min} 80\%B$

流速：1.3 ml·min^{-1}



色谱峰：1—cU；2—Cyd；3—cC·HCl；4—araC；5—Urd；6—araU；7—2′,5′-An-araC；8—2′,5′-An-araU；9—5′-氯-araC

色谱柱：填充 Separon SGX C_{18} 胶体，150 mm×3 mm（内径），7 μm

柱　温：23℃

流动相：5%甲醇+0.01 mol·L⁻¹ KH_2PO_4（pH5.5）

流　速：0.45 mL·min⁻¹

检测器：UV（275 nm）

图 13-42　核苷分离色谱图[15]

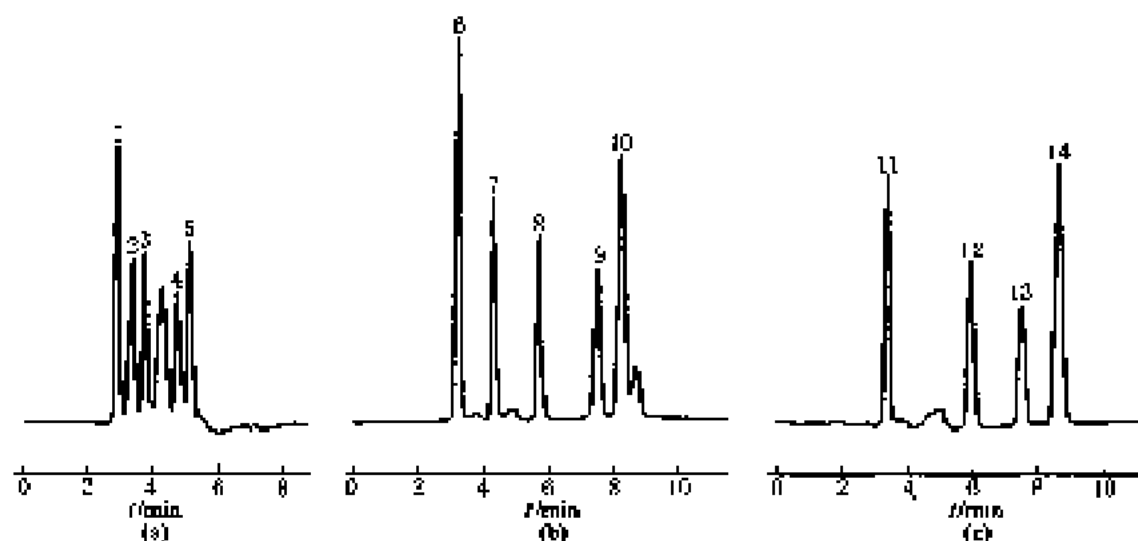


图 13-43　核酸标准品分离色谱图[1]

(a) 1.0 μmol·L⁻¹碱基水样谱图；(b) 1.0 μmol·L⁻¹核苷和胸苷水样谱图；

(c) 1.0 μmol·L⁻¹脱氧核苷水样谱图

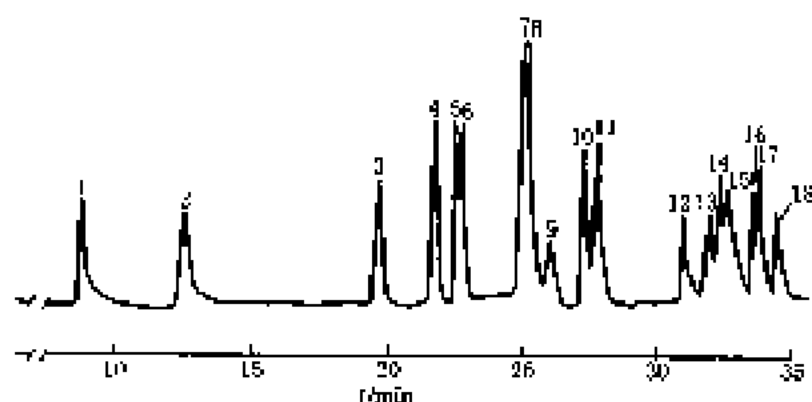
色谱峰：1—胞嘧啶；2—尿嘧啶；3—鸟嘌呤；4—腺嘌呤；5—胸腺嘧啶；6—胞苷；7—尿苷；8—鸟苷；9—胸苷；10—腺苷；11—脱氧胞苷；12—脱氧鸟苷；13—脱氧胸腺苷；14—脱氧腺苷

色谱柱：ODS，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：纯水

流　速：1.0 mL·min⁻¹

检测器：UV（260 nm）



色谱峰：1—ASP；2—GLU；3—ASN；4—SER；5—HIS；6—GLN；7—GLY；8—THR；9—ARG；10—TYR；11—ALA；12—TRP；13—MET；14—VAL；15—PHE；16—ILE；17—LEU；18—LYS

色谱柱：填充 C_{18} Ultrasphere ODS 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

保护柱：Altex-ODS-5

柱温：32℃

图 13-44 氨基酸标准混合物（OPA 衍生化）色谱图[21]

流动相：A：THF＋甲醇—0.1 mol·L⁻¹ NaAc（pH7.2）（体积比＝5：95：900）；B：甲醇

线性梯度冲洗：

时间/min	φ(B)/%	时间/min	φ(B)/%
0.0	0	27.0	100
0.1	20	32.0	5
12.0	45	40.0	0
20.0	60		

流速：2 ml·min⁻¹

检测器：荧光（λ_{ex}＝360 nm，λ_{em}＝455 nm）

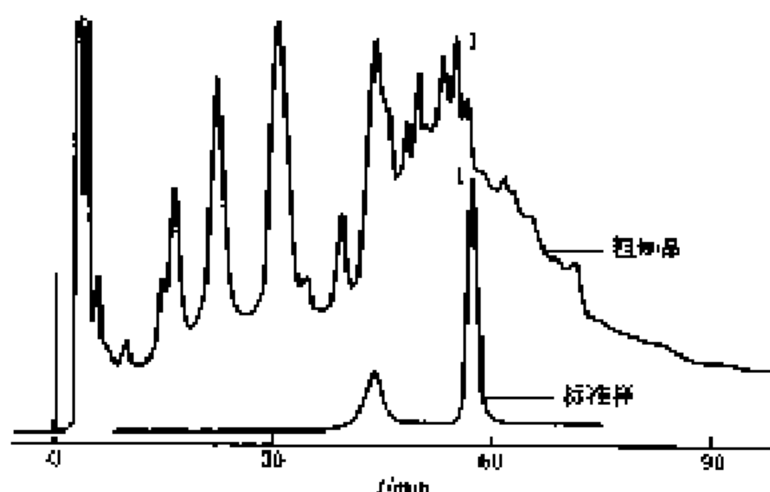


图 13-45 铁氧还蛋白 NADP 还原酶色谱图[22]

色谱峰：1—铁氧还蛋白

色谱柱：填充 Progel TSK Phenyl-5PW（Supelco），75 mm×7.5 mm（内径），10 μm

柱温：25℃

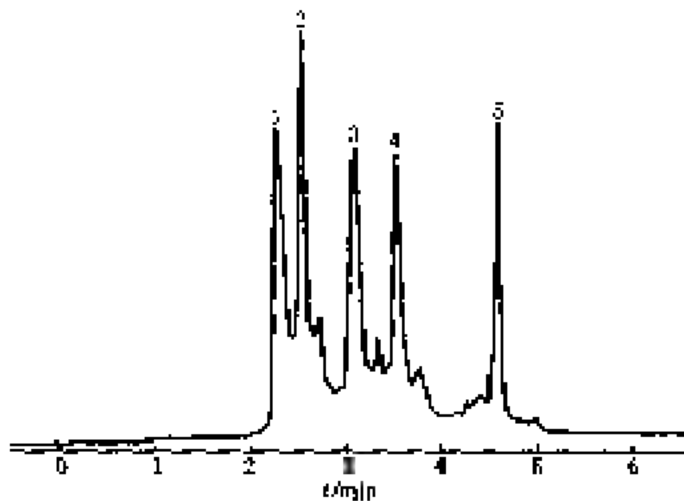
流动相：溶剂 A 1.5 mol·L⁻¹ $(NH_4)_2SO_4$＋0.1 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH7）

溶剂 B 0.1 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH7）

线性梯度冲洗 0%B $\xrightarrow{50\ min}$ 100%B

流速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）



色谱峰：1—伴清蛋白；2—铁传递蛋白；3—α-乳清蛋白；4—β-乳清蛋白；5—胰蛋白酶抑制剂

色谱柱：填充TSKgel DEAE-NPR树脂，35 mm×4.6 mm（内径），2.5 μm

柱　温：25℃

流动相：溶剂A 20 mmol·L⁻¹ tris-HCl缓冲液（pH8.0）

溶剂B 20 mmol·L⁻¹ tris-HCl缓冲液（pH8.0）+0.5 mol·L⁻¹ NaCl

线性梯度洗脱：0%B $\xrightarrow{10\ min}$ 100%B

流　速：1.5 mL·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）

图13-46　无孔弱阴离子交换树脂快速分析蛋白质谱图[15]

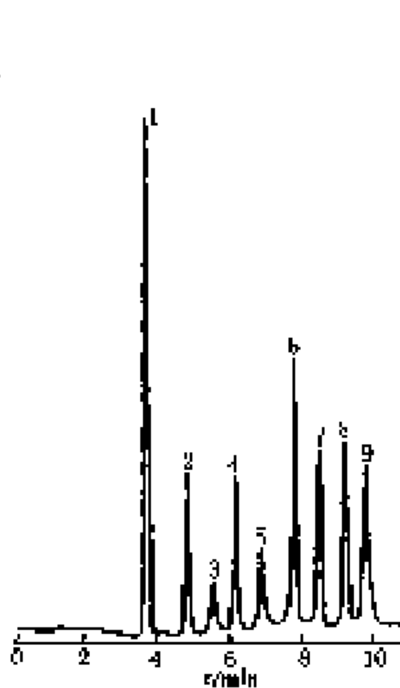


图13-47　烷基苯胺色谱图（一）[19]

色谱峰：1—正乙基苯胺；2—2,6-二甲基苯胺；3—邻乙基苯胺；4—2,5-二甲基苯胺；5—2,4-二甲基苯胺；6—3,5-二甲基苯胺；7—间甲基苯胺；8—3,4-二甲基苯胺；9—对甲基苯胺

色谱柱：填充HITACHI GEL 3043，250 mm×4.0 mm（内径）

流动相：[illegible]-乙腈（体积比=0.99：98.21：0.80）

流　速：0.43 mL·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

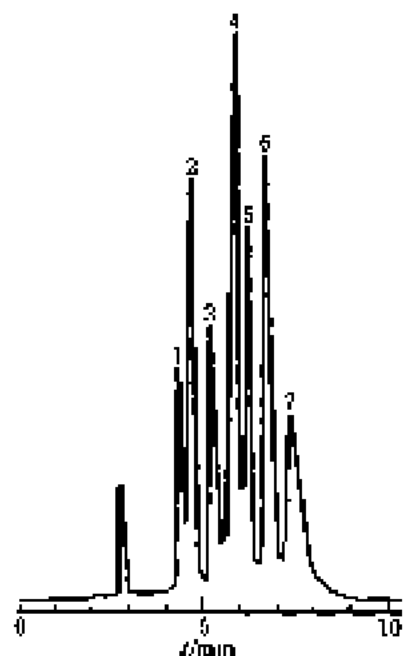


图13-48　烷基苯胺色谱图（二）[20]

色谱峰：1—间甲基苯胺；2—对甲基苯胺；3—2,6-二甲基苯胺；4—2,5-二甲基苯胺；5—2,4-二甲基苯胺；6—3,5-二甲基苯胺；7—3,4-二甲基苯胺

色谱柱：填充HITACHI GEL 3053，150 mm×4.0 mm（内径）

流动相：甲醇+水（体积比=55：45）

流　速：0.70 mL·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

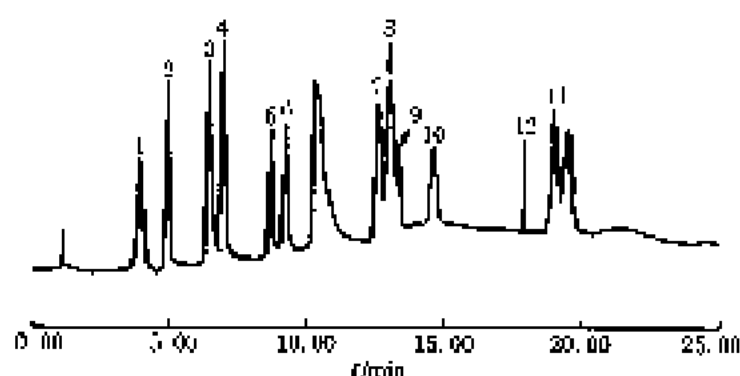


图 13-49　脱氧核糖核酸色谱图[27]

色谱峰：1—单磷酸脱氧胞苷；2—单磷酸脱氧胸苷；3—单磷酸脱氧腺苷；4—单磷酸脱氧鸟苷；5—二磷酸脱氧胞苷；6—二磷酸脱氧胸苷；7—二磷酸脱氧腺苷；8—二磷酸脱氧鸟苷；9—三磷酸脱氧胞苷；10—三磷酸脱氧胸苷；11—三磷酸脱氧腺苷；12—内标物中三磷酸脱氧鸟苷

色谱柱：AS1A 改性聚苯乙烯（Dionex），25 cm×4 mm（内径）

流动相：A．5 mmol·L⁻¹ $NH_4H_2PO_4$（pH2.8）

B．25 mmol·L⁻¹ $NH_4H_2PO_4$（pH4.7）

梯度冲洗：25 min 内从0%B变至100%B

流　速：1.5 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

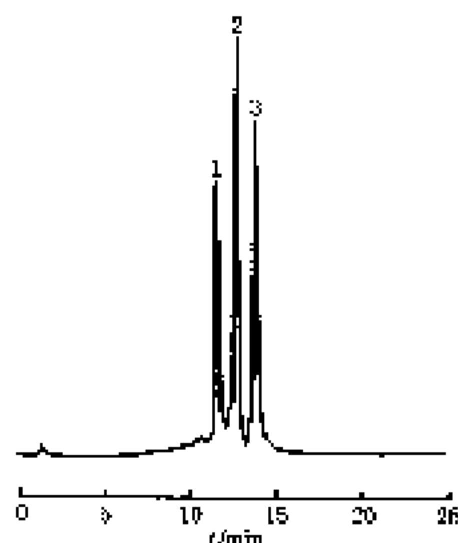


图 13-50　标准蛋白质混合物分离色谱图[29]

色谱峰：1—核糖核酸酶A（10μg）；2—胰凝白酶原A（5μg）；3—细胞色素C（5μg）

色谱柱：protEK-SP

柱　温：27℃

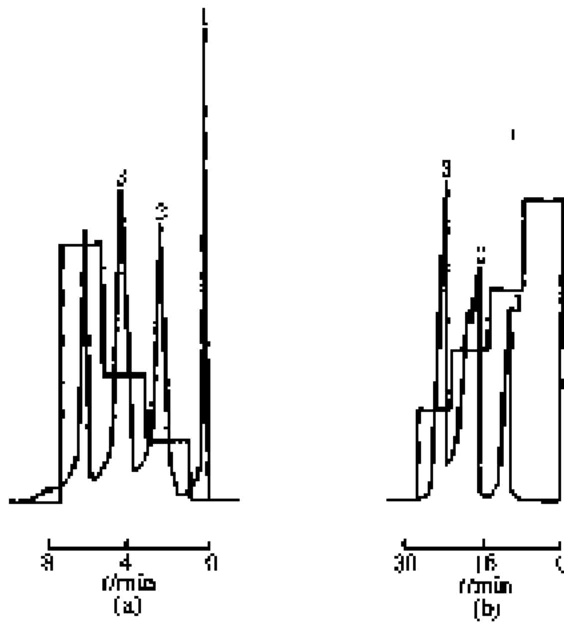
流动相：A．20 mmol·L⁻¹ K_2PO_4（pH6.0）

B．溶剂A＋0.5 mol·L⁻¹ NaCl

0%～100%B 梯度冲洗 20 min

流　速：0.5 ml·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）



色谱峰：1—肌红蛋白；2—伴清蛋白；3—胰凝乳蛋白酶原

色谱柱：(a) GMA-EDMA（50＋50）修饰的固含有2 mmol·g^{-1} DEA基团；

(b) 辛基-异丁烯酸＋GMA＋EDMA（体积比＝15：35：50）

流动相：(a) 0.01 mol·L^{-1} Tris盐酸缓冲液（pH7.6）；

(b) φ＝5% 2-丙醇＋0.02 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.8）

图 13-51 蛋白质多元梯度分离色谱图[40]

梯度淋洗：(a)

时间/min	NaCl 浓度/mol·L^{-1}
1	0
2	0.15
2	0.30
2	0.5

(b)

时间/min	$(NH_4)_2SO_4$ 浓度/mol·L^{-1}
5	2
5	1.4
5	1.0
6	0.5

流 速：3 mL·min^{-1}

检测器：双波长紫外检测器

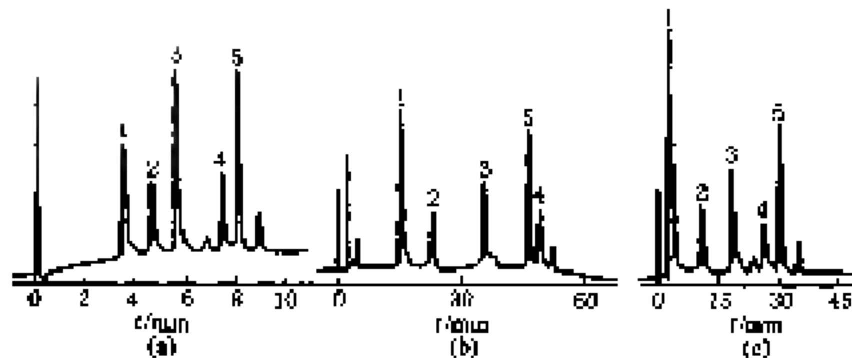


图 13-52 蛋白质的多孔和无孔疏水作用柱分离色谱图[37]

色谱峰：1—肌红蛋白；2—核糖核酸酶；3—溶菌酶；4—α-糜蛋白酶；5—α-糜蛋白酶原

色谱柱：(a) TSKgel Butyl-NPR（TosoHaas），3.5 cm×4.6 mm（内径），2.5 μm；

(b) TSKgel Phenyl-5PW（TosoHaas）100 nm，7.5cm×7.5 mm（内径），10 μm；

(c) TSKgel Ether-5PW（TosoHaas），7.5 cm×4.6 mm（内径），10 μm

柱 温：25℃

流动相：$(NH_4)_2SO_4$—0.1 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH7.0）

线性梯度淋洗：(a) 2.3 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$ $\xrightarrow{18\ min}$ 0 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$；

(b) (c) 1.8 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$ $\xrightarrow{60\ min}$ 0 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$

流 速：1.0 mL·min^{-1}　　　　检测器：UV（280 nm）



图 13-53 蛋白质混合物分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—肌红蛋白；2—卵清蛋白；3—溶菌酶；4—糜蛋白酶原

色谱柱：G 50 C_1 柱，1 mm 厚壁柱，250 mm×4.6 mm（内径），填充 C_{18}

柱　温：室温

流动相：溶剂 A 2 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$＋0.02 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.8）

　　　　溶剂 B 0.02 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.8）

梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{30\ min}$ 100%B

流　速：[illegible] ml·min^{-1}

检测器：UV

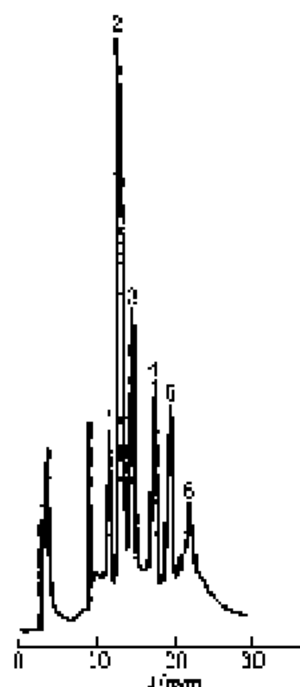


图 13-54 蛋白质高 pH（12.2）分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—核糖核酸酶 A；2—胰岛素；3—细胞色素 C；4—卵清白蛋白；5—肌红蛋白；6—溶菌酶

色谱柱：填充 PRP-3（Hamilton）柱体，50 mm×4.1 mm（内径），10 μm

柱　温：室温

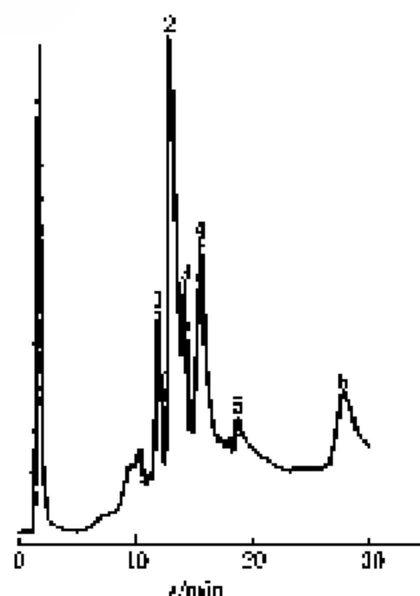
流动相：溶剂 A 50 mmol·L^{-1} NaOH＋0.1%三氟乙酸＋水

　　　　溶剂 B 0.1%三氟乙酸－乙腈

线性梯度冲洗：0%B→50%B

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）



色谱峰：1—核糖核酸酶 A；2—胰岛素；3—细胞色素；4—卵清白蛋白；5—溶菌酶；6—肌红蛋白

色谱柱：填充 PRP-3（Hamilton）柱体，50 mm×4.1 mm（内径），10 μm

柱　温：室温

流动相：溶剂 A 0.1%三氟乙酸＋水（pH2.0）

　　　　溶剂 B 0.1%三氟乙酸＋乙腈

线性梯度冲洗：0%B——→50%B

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（215 nm）

图 13-55 蛋白质低 pH（2.0）分离色谱图[illegible]

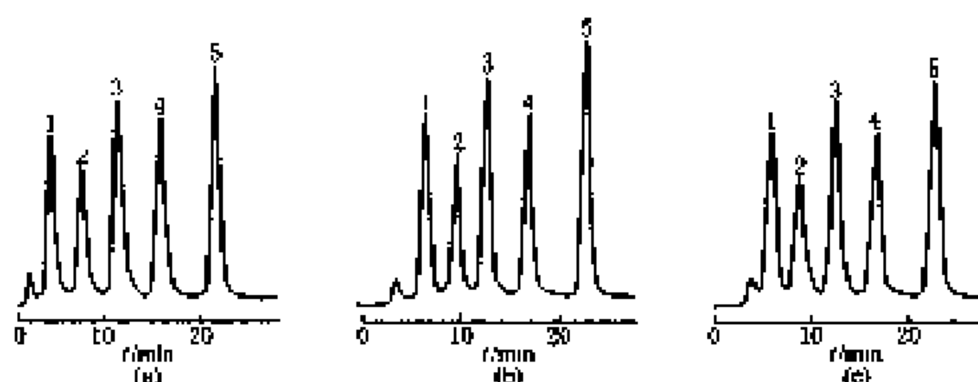


图 13-56　蛋白质快速分离色谱图[71]

色谱峰：1—胰岛素B链；2—胰岛素；3—溶菌酶；4—α乳清蛋白；5—碳酸酐酶

色谱柱：NP-C_{18}，粒径分别为 (a) 2 μm，(b) 5 μm 和 (c) 20 μm

柱　温：75℃

流动相：溶剂A 0.1% TFA＋水

　　　　溶剂B 0.1% TFA＋90%水溶乙腈

线性梯度冲洗：22%B ⟶ 100%B

流　速：4 ml·min^{-1}

检测器：UV (220 nm)

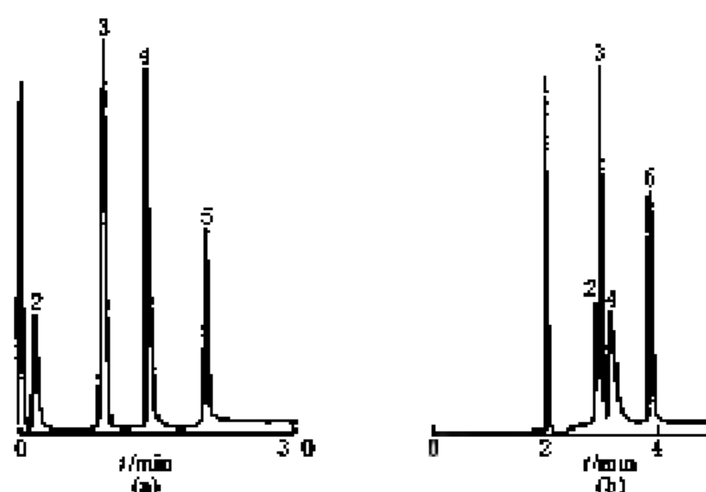


图 13-57　蛋白质的两种不同色谱柱快速分离色谱图[80]

色谱峰：1—核糖核酸酶；2—胰岛素；3—溶菌酶；4—牛血清蛋白；5—卵清蛋白

色谱柱：(a) 填充 TSK-Gel NPR-C_{18}填料，35 mm×4.6 mm (内径)，5 μm；

　　　　(b) 填充 VYDAC C_{18}填料，250 mm×4.6 mm (内径)，5 μm

柱　温：40℃

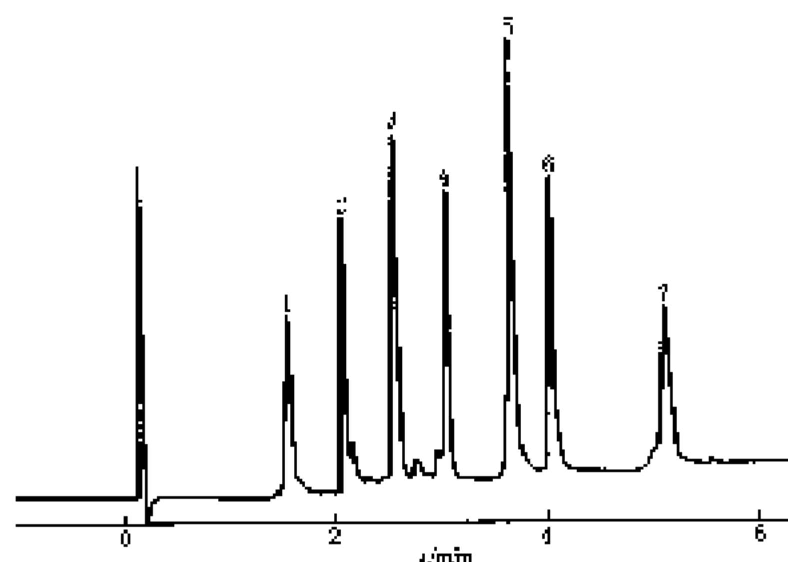
流动相：溶剂A 0.1%TFA

　　　　溶剂B 0.1%TFA＋乙腈

梯度冲洗：7.5%B→57.5%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：二极管阵列



色谱峰：1—核糖核酸酶；2—胰岛素；3—细胞色素C；4—溶菌酶；5—α乳清蛋白；6—肌红蛋白；7—卵清蛋白

色谱柱：填充TSKgel C_{18}-NPR载体，35 mm×4.6 mm（内径），2.5 μm

柱　温：25℃

流动相：溶剂A 0.05%三氟乙酸—水

溶剂B 0.05%三氟乙酸＋乙腈

线性梯度冲洗　20%B $\xrightarrow{6\ min}$ 80%B

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）

图13-58　蛋白质、胰岛素等的无孔反相树脂分离色谱图[17]

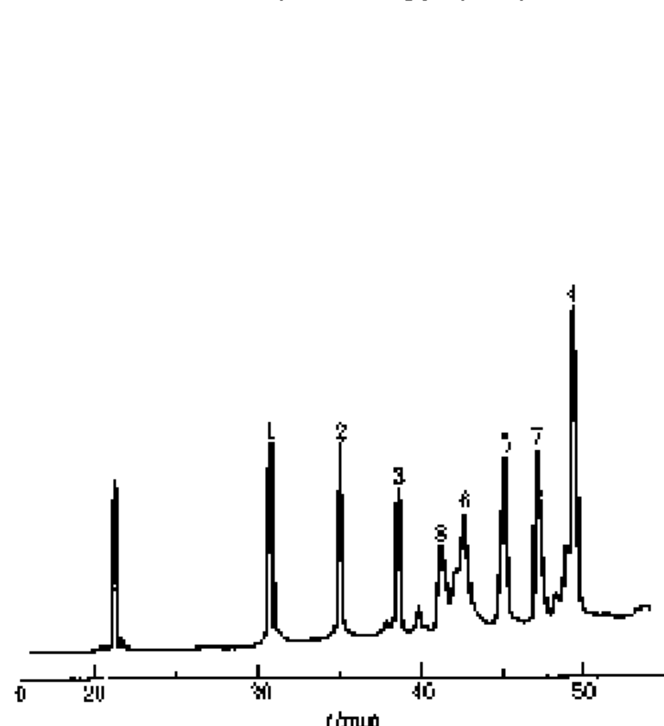


图13-59　蛋白质混合物分离色谱图（ ）[58]

色谱峰：1—核糖核酸酶A；2—细胞色素C；3—溶菌酶；4—RsTnC；5—α胰凝乳蛋白酶原-A；6—RcTM；7—烯醇酶；8—BSA

色谱柱：填充Aquapore RP-300 C_8载体，220 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：26℃

流动相：溶剂A 0.1%TFA

溶剂B 0.1%TFA＋乙腈（pH2.0）

梯度冲洗　线性A——B梯度（1%·min^{-1}B）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：HP 1040A

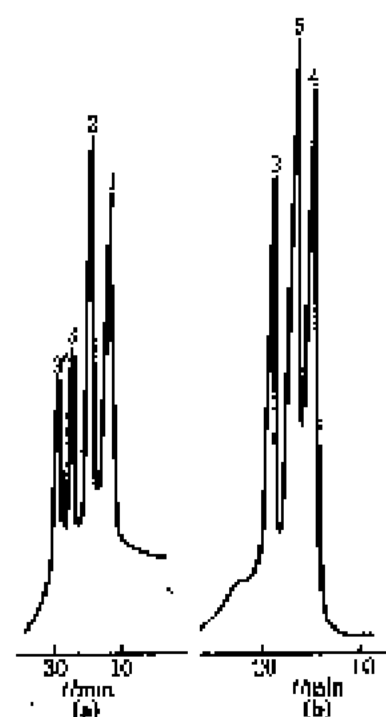


图13-60　蛋白质混合物分离色谱图（ ）[27]

色谱峰：1—核糖核酸；2—卵粘蛋白；3—α糜蛋白酶原；4—卵清蛋白；5—溶菌酶

色谱柱：(a) 1 mm厚膜柱，200 mm×4.6 mm（内径），填充C_{18}载体；

(b) 毛细管柱，140 mm×0.5 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：溶剂A 2 mol·L^{-1} $(NH_4)_2SO_4$＋0.02 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.8）

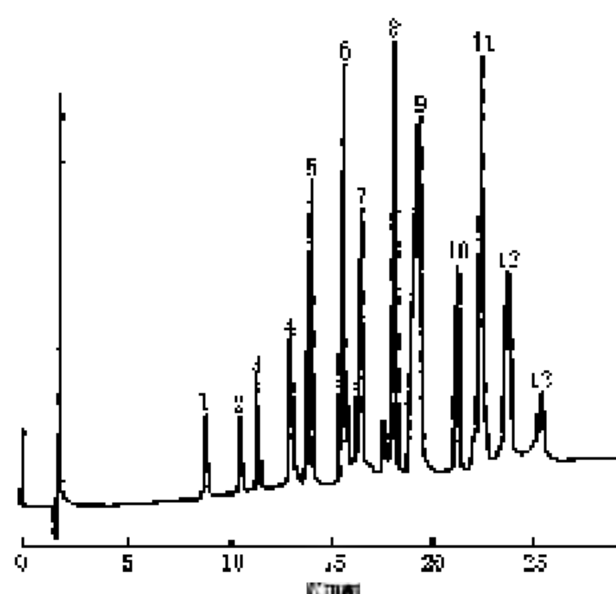
溶剂B 0.02 mol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH6.8）

梯度冲洗：(a) 0%B $\xrightarrow{5\ min}$ 100%B；

(b) 0%B $\xrightarrow{20\ min}$ 100%B

流　速：(a) 0.5 ml·min^{-1}；(b) 10 ml·min^{-1}

检测器：UV



色谱峰：1—蛋氨酸脑啡肽；2—亮氨酸脑啡肽；3—血管紧张肽Ⅱ；4—血管紧张肽Ⅰ；5—核糖核酸酶A；6—牛胰岛素；7—细胞色素C；8—溶菌酶；9—牛血清蛋白；10—肌红素；11—碳酸脱水酶；12—β-淀粉酶；13—卵清蛋白

色谱柱：填充6 μm Zorbax C_8，30 nm孔体，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：室温

流动相：溶剂A 0.1%三氟乙酸＋水

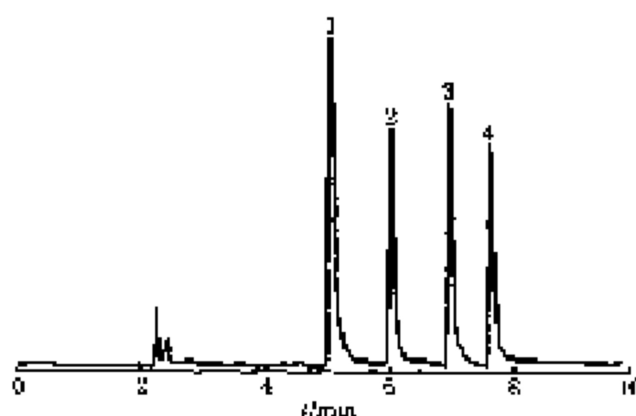
溶剂B 0.1%三氟乙酸＋乙腈

线性梯度冲洗：10%B $\xrightarrow{25\ min}$ 60%B

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）

图13-61　蛋白质混合物分离色谱图（三）[24]



色谱峰：1—核糖核酸酶；2—细胞色素；3—牛血清蛋白；4—卵清蛋白（浓度均为60 μg·ml^{-1}）

色谱柱：RP8，300Å，170 mm×4 mm（内径），5 μm

柱　温：室温

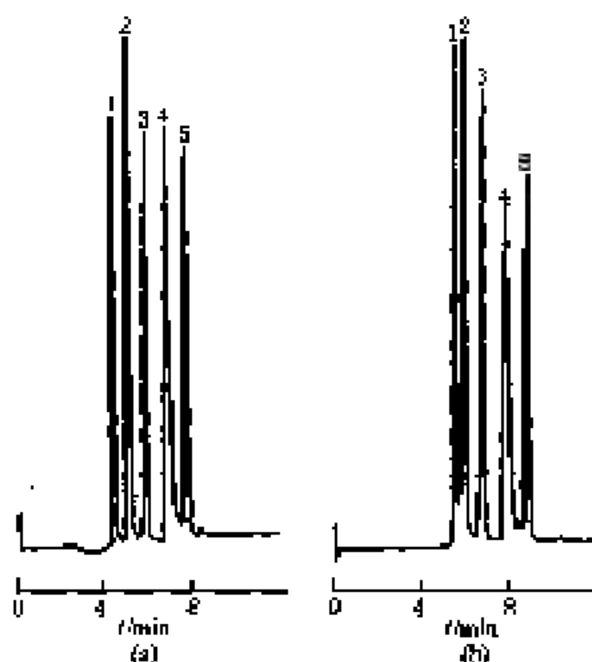
流动相：水＋乙腈，内含0.1% TFA

梯度冲洗：H_2O＋CH_3CN（体积比＝90∶10）$\xrightarrow{15\ min}$ H_2O＋CH_3CN（体积比＝10∶90）

流　速：0.3 ml·min^{-1}

检测器：荧光检测器（λ_{ex}＝230 nm，λ_{em}＝455 nm）

图13-62　蛋白质混合物分离色谱图（四）[25]



色谱峰：1—胰岛素；2—细胞色素C；3—溶菌酶；4—牛血清蛋白；5—碳酸酐酶

色谱柱：(a) NP-C_{18}-5（0.5 m^2·g^{-1}）；

(b) NP-C_{18}-7（100 m^2·g^{-1}）

柱　温：室温

流动相：溶剂A 0.1%TFA－水

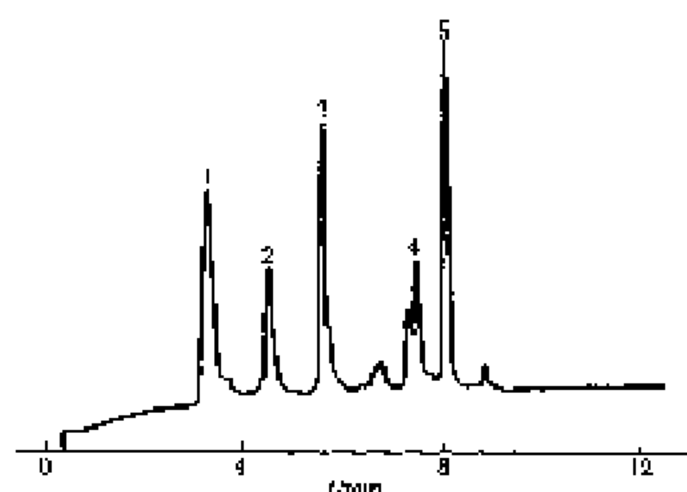
溶剂B 0.1%TFA＋90%乙腈

线性梯度冲洗：10%B $\xrightarrow{20\ min}$ 100%B

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：分光光度

图13-63　蛋白质混合物分离色谱图（五）[26]



色谱峰：1—肌红蛋白；2—核糖核酸酶；3—溶菌酶；4—α-胰凝乳蛋白酶；5—α-胰凝乳蛋白酶原

色谱柱：填充 Butyl-NPR TSKgel 载体，35 mm×4.6 mm（内径），2.5 μm

柱　温：25℃

流动相：溶剂 A 2.3 mol·L⁻¹ $(NH_4)_2SO_4$+0.1 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH7.0）

　　　　溶剂 B 0.1 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液（pH7.0）

线性梯度冲洗：0%B $\xrightarrow{10\ min}$ 50%B

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（280 nm）

图 13-64　蛋白质混合物分离色谱图（六）[15]

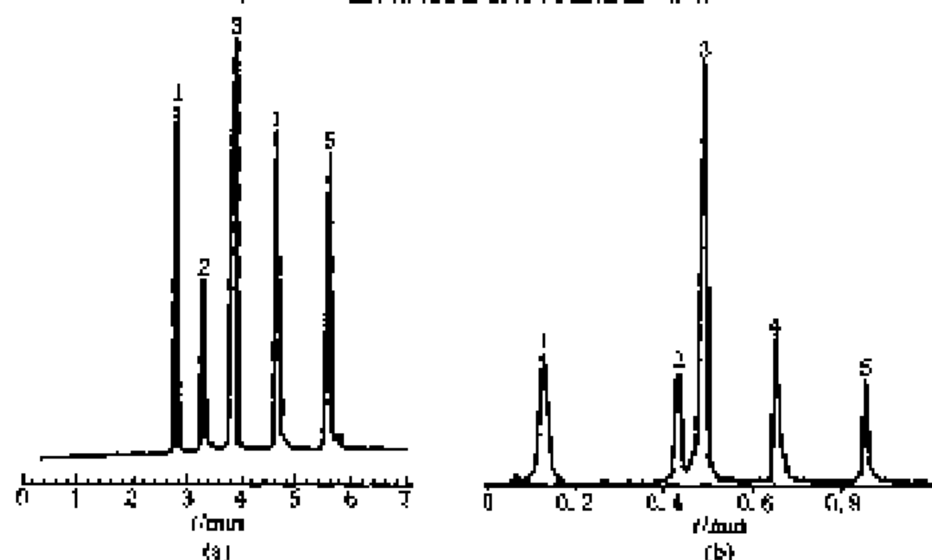


图 13-65　蛋白质混合物快速分离色谱图[16]

色谱峰：1—核糖核酸酶；2—胰岛素；3—溶菌酶；4—牛血清蛋白；5—卵清蛋白

色谱柱：填充 TSK-Gel NPR-C_{18}，35 mm×4.6 mm（内径），2.5 μm

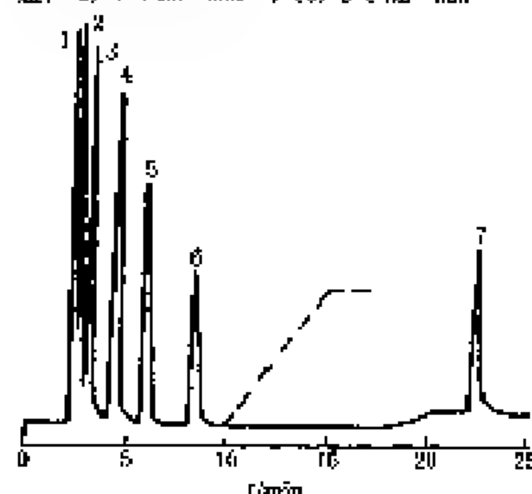
柱　温：(a) 40℃；(b) 80℃

流动相：溶剂 A 0.1%TFA；溶剂 B 0.1%TFA+乙腈

流　速：(a) 1.5 ml·min⁻¹；(b) 3.0 ml·min⁻¹

梯度冲洗：(a) 10%B→60%B；(b) 20%B→60%B

检测器：二极管矩阵



色谱峰：1—次黄苷酸；2—腺三磷；3—腺二磷；4—腺一磷；5—次黄嘌呤；6—肌苷；7—腺苷

色谱柱：Lichrosorb RP

柱　温：室温

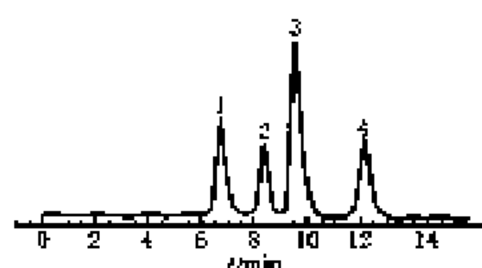
流动相：100 mmol·L⁻¹ KH_2PO_4+甲醇（pH6.5）

线性梯度冲洗：1.2%甲醇 5 min 后变为 15%甲醇，10 min 后按图中曲线进一步增加甲醇浓度

流　速：1.25 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

图 13-66　腺苷三磷酸及其降解产物分离色谱图[17]



色谱峰：1—AFT G_2；2—AFT G_1；3—AFT B_2；4—AFT B_1

色谱柱：LiChrospher 100，C_{18} 5 μm，125 mm×4 mm（内径）

流动相：水+乙腈+甲醇（体积比=70：15：15）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：荧光（λ_{ex}=360 nm，λ_{em}=440 nm）

图 13-67　黄曲霉毒素的在线电化学衍生化分离色谱图[26]

第二节　异构体和手性化合物色谱图



图 13-68　（+/−）-10-樟脑磺酸拆分色谱图[27]

色谱峰：1—（+）-10-樟脑磺酸；2—（−）-10-樟脑磺酸

色谱柱：LiChrosorb DIOL

流动相：0.35 mmol·L^{-1}奎尼定，0.35 mmol·L^{-1}乙酸-二氯甲烷+1-戊醇（体积比=99：1）

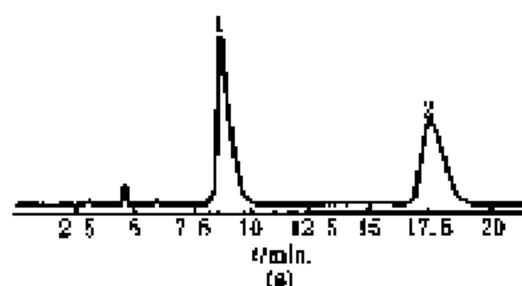


图 13-69　（+/−）-N-t-BOC-苯丙氨酸消旋体拆分色谱图[28]

色谱峰：1—（−）-N-t-BOC-苯丙氨酸；2—（+）-N-t-BOC-苯丙氨酸

色谱柱：LiChrosorb DIOL

流动相：0.35 mmol·L^{-1}奎尼定，0.35 mmol·L^{-1}奎尼定-二氯甲烷+1-戊醇（体积比=99：1）



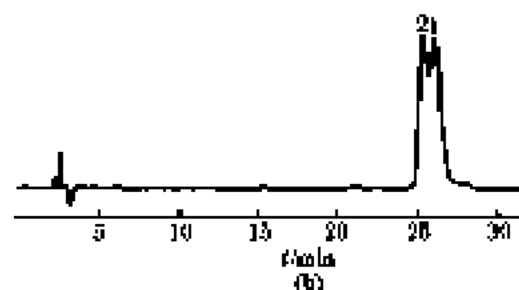


图 13-70　（±）-JA-（S）-苏氨酸甲酯的非对映异构体分离色谱图[29]

色谱峰：1—（−）JA-（S）-苏氨酸甲酯；2—（+）JA-（S）-苏氨酸甲酯

色谱柱：（a）chiralpak AS；（b）Lichrospher 100 RP-18

流动相：（a）正己烷+2-丙醇（体积比=70：30）；（b）甲醇+0.2%乙酸（体积比=40：60）

检测器：（a）UV（280 nm）；（b）UV（310 nm）

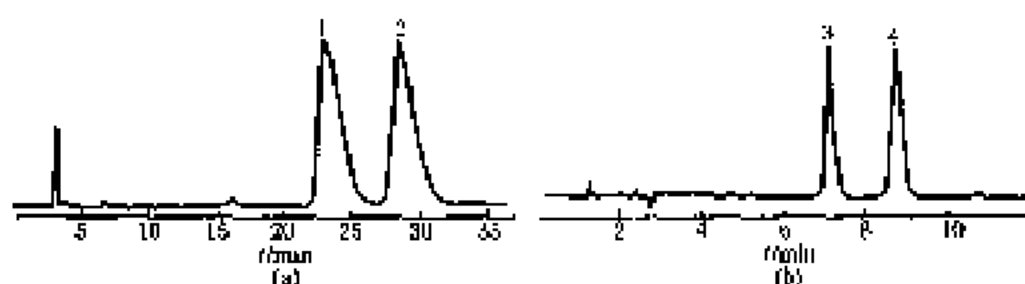


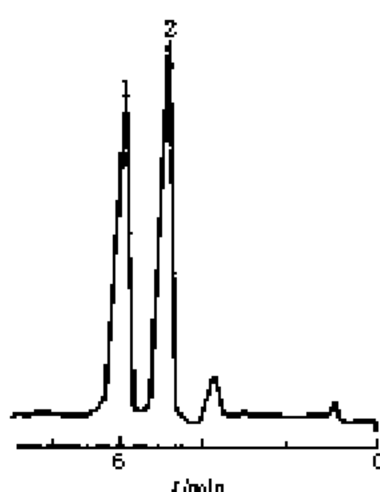
图 13-71　(±)-JA-S-缬氨醇手性分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—(−)JA-(S)-缬氨醇；2—(+)JA-(S)-缬氨醇；3—(+)JA-(S)-缬氨醇；4—JA-(S)-缬氨醇

色谱柱：(a) Chiralpak AS；(b) LiChrospher 100 RP 18

流动相：(a) 正己烷－2-丙醇（体积比＝95：5）；(b) 甲醇＋0.2%乙酸（体积比＝60：40）

检测器：(a) UV（280 nm）；(b) UV（210 nm）

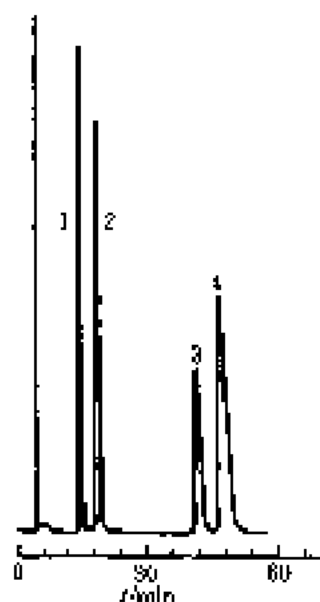


色谱峰：1—S-阿普洛尔；2—R-阿普洛尔

色谱柱：LiChrosorb DIOL

流动相：2.5 mmol·L^{-1} ZGP＋1 mmol·L^{-1}三乙胺-二氯甲烷（80 μL·L^{-1} H_2O）

图 13-72　(R，S)-阿普洛尔分离色谱图[illegible]



色谱峰①：1—D-苏-[β-MePhe^3] deltorphin C；2—D-赤-[β-MePhe^3] deltorphin C；3—L-赤-[β-MePhe^3] deltorphin C；4—L-苏-[β-MePhe^3] deltorphin C

① β-MePhe 代表 N-甲苯胺；

[β-MePhe^3] deltorphin C 代表 Tyr-D-Ala-β-MePhe-Asp-Val-Val-Gly-NH_2

色谱柱：Vydac 218 TP104 C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：乙腈－0.1%TFA（体积比＝20：80）

检测器：UV（220 nm）

图 13-73　[β-MePhe^3] deltorphin C 非对映体色谱图[illegible]

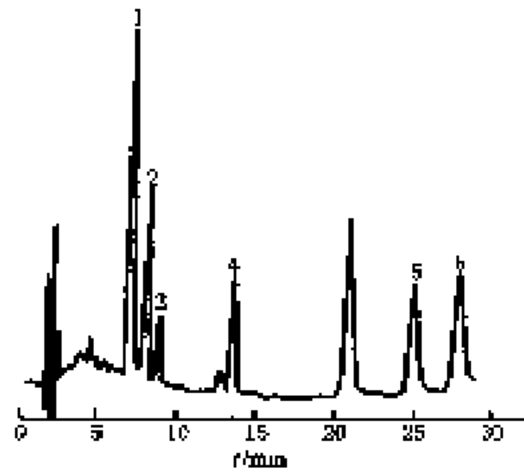
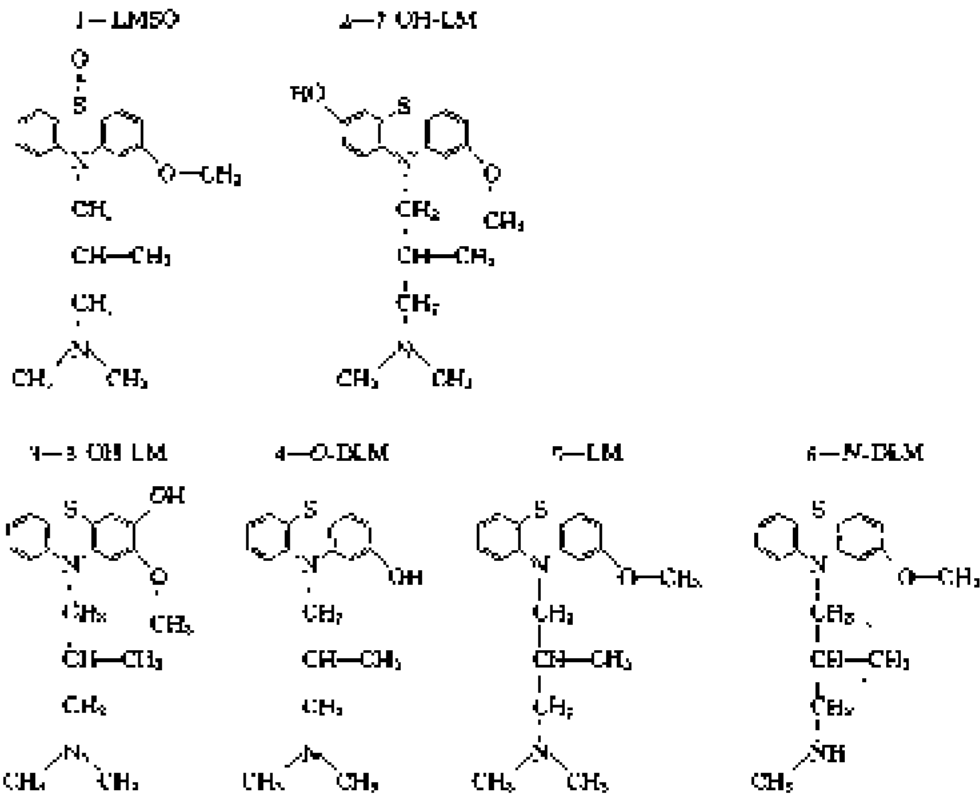


图 13-74　左美丙嗪及其代谢物的色谱图[56]

色谱峰：

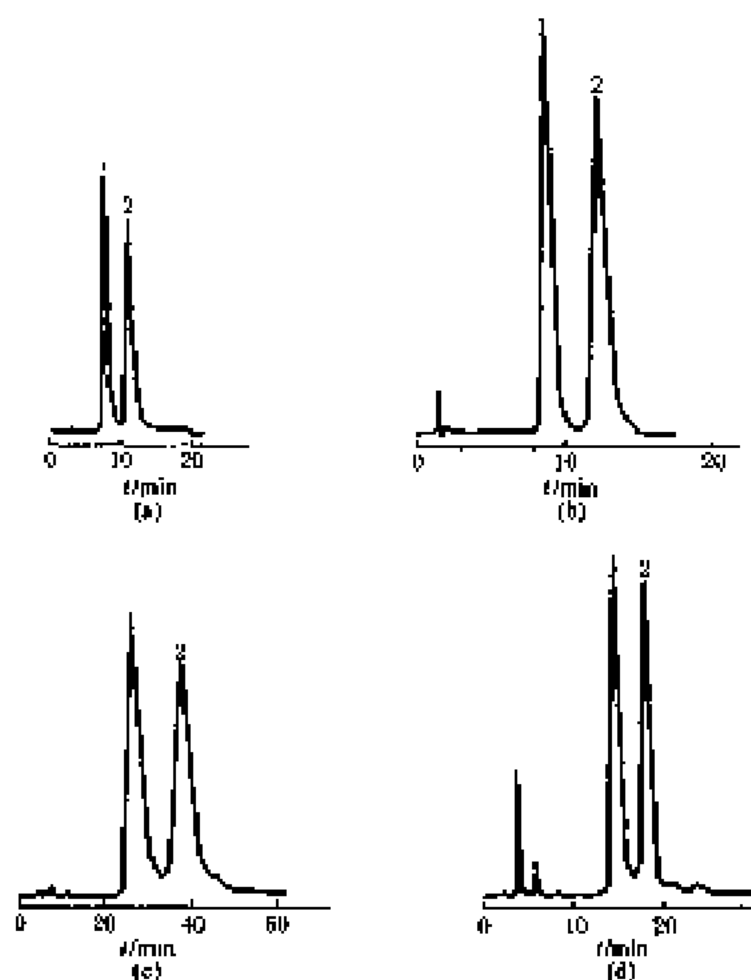


色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径）

预处理柱：填充 Supelcosil C_{18}，DB，20 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：φ=50%乙腈含有 500 mmol·L^{-1}乙酸铵，25 mmol·L^{-1}十二烷基硫酸钠（pH5.0），φ=5%THF

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—R-H Bin-OH；2—S-H-Bin-OH

色谱柱：Chira Dex，250 mm×4 mm（内径），5 μm

流动相：KH_2PO_4（pH3）—甲醇（体积比=75∶25）

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：UV（220 nm）

图 13-75　2′,1′:1,2;1″,2″:3,4-二萘芳庚并-1,3-二烯-6-氨基-6-羧酸(Bin)对映体分离色谱图[33]

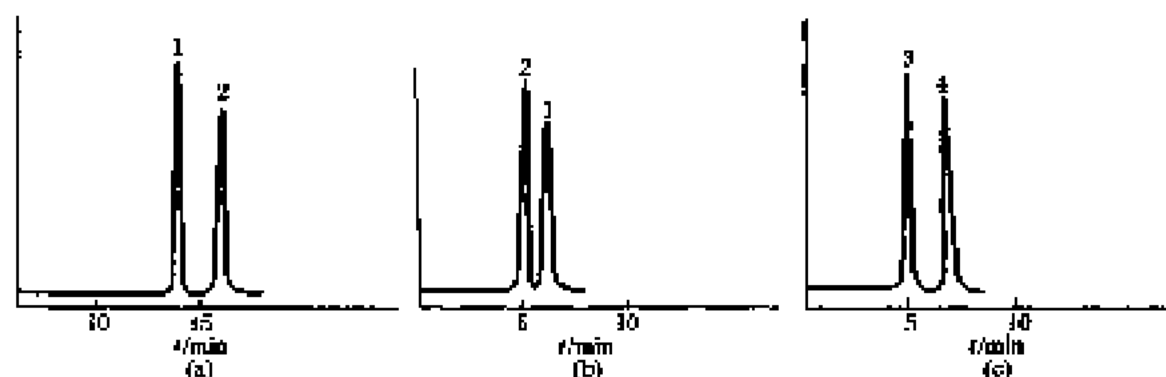


图 13-76　3-氟丙氨酸和3，3-二氟丙氨酸对映体分离色谱图[34]

色谱峰：(a)、(b) 1—D-3-氟丙氨酸；2—L-3-氟丙氨酸；

　　　　(c) 3—L-3,3-二氟丙氨酸；4—D-3,3-二氟丙氨酸

色谱柱：(a) 填充 ChiralPro-Cu 载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm；

　　　　(b)、(c) 填充 5 μm Nucleosil Chiral-1 载体，250 mm×4.0 mm（内径）

流动相：(1～2.5) mmol·L^{-1} $CuSO_4$

流　速：0.75 ml·min^{-1}　　　　检测器：UV（235 nm）

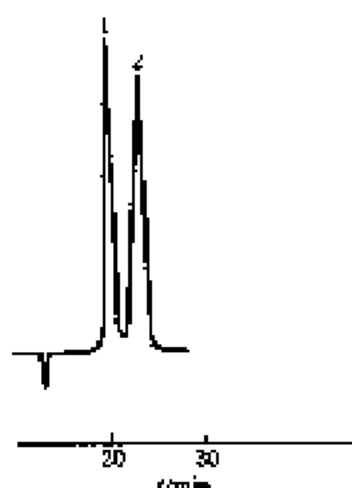


图 13-77　4-氯-DL-α-苯基甘氨酸的对映体分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—4-氯-D-α-苯基甘氨酸；2—4-氯-L-α-苯基甘氨酸

色谱柱：Chiral Valcu，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

柱　温：35℃

流动相：5.0 mmol·L⁻¹ $CuSO_4$

流　速：0.75 ml·min⁻¹

检测器：UV（235 nm）

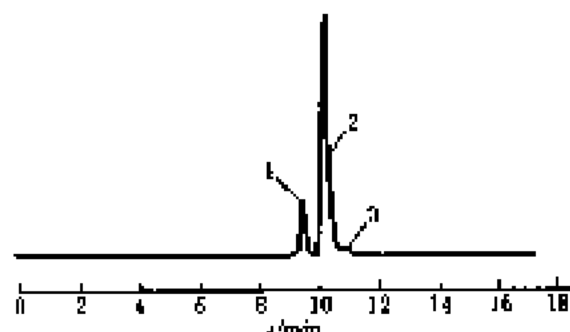


图 13-78　9-反，11-顺-$C_{18:2}$脂肪酸色谱图[illegible]

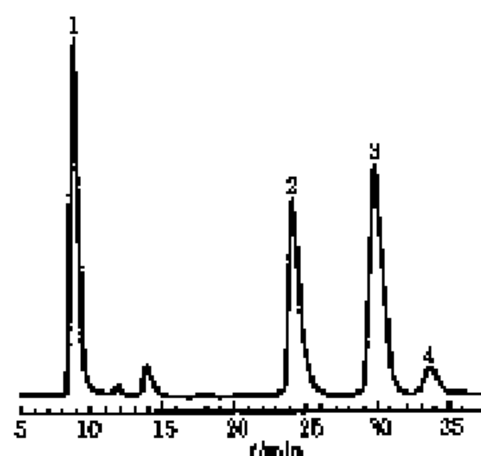
色谱峰：1—9-反，11-反-十八二烯酸；2—9-顺，11-反-十八二烯酸；3—9-顺，11-顺-十八二烯酸

色谱柱：4.6 mm（内径）×250 mm，5 μm

流动相：0.5%乙腈＋己烷

流　速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV（206 nm）



色谱峰：1—BA 反式 1，2-二氢二醇；2—BA 反式 5，6-二氢二醇；3—BA-8，9 和 10，11-反式二氢二醇；4—BA-反式-3，4-二氢二醇

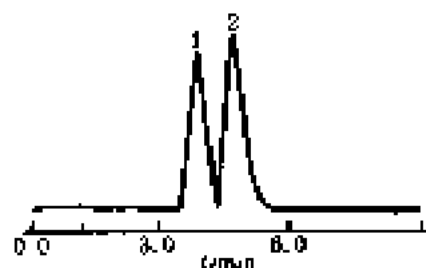
色谱柱：填充 Vydac C_{18}载体，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：甲醇＋水（体积比＝3：2）

流　速：1.2 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

图 13-79　BA 反式二氢二醇反相分离色谱图[illegible]



色谱峰：1—D-肾上腺素；2—L-肾上腺素

色谱柱：Spherisorb C_{18}柱（200 mm×4.6 mm，10 μm）；流动相：V（甲醇）：V（水）＝40：60，含 0.6 mmol·L⁻¹ DM-β-CD，0.2% H_3PO_4

流　速：0.7 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

图 13-80　D、L-肾上腺素的色谱图[illegible]

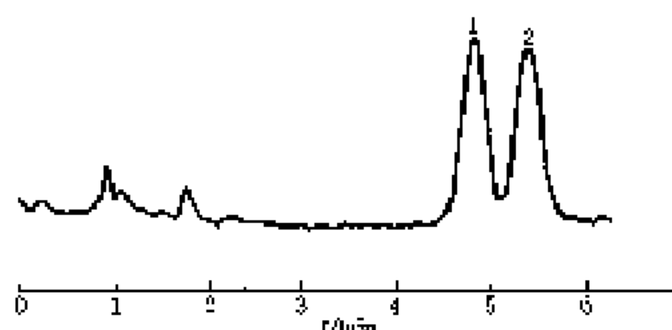


图 13-81 L-色氨酸拆分色谱图[7]

色谱峰：1—L-色氨酸；2—D-色氨酸

色谱柱：LiChrosorb RP-2

流动相：20 μmol·L⁻¹ HSA＋磷酸盐缓冲液（pH6.5）

检测器：UV（280 nm）

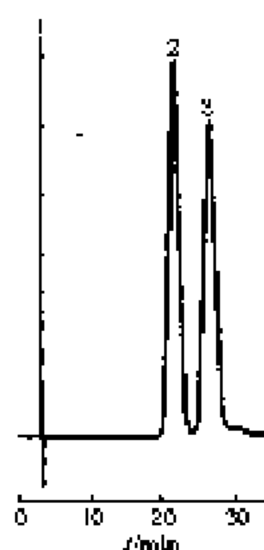


图 13-82 1，1'-联萘-2，2'-二酚对映体拆分色谱图[8]

色谱峰：1—NO_3^-；2—S-联萘二酚；3—R-联萘二酚

色谱柱：填充 LiChrosorb RP-18 载体，15 cm×0.35 mm（内径），5 μm

柱　温：20°C

流动相：5%乙腈-200 mmol·L⁻¹NaCl

流　速：3.8 μl·min⁻¹

检测器：UV（237 nm）

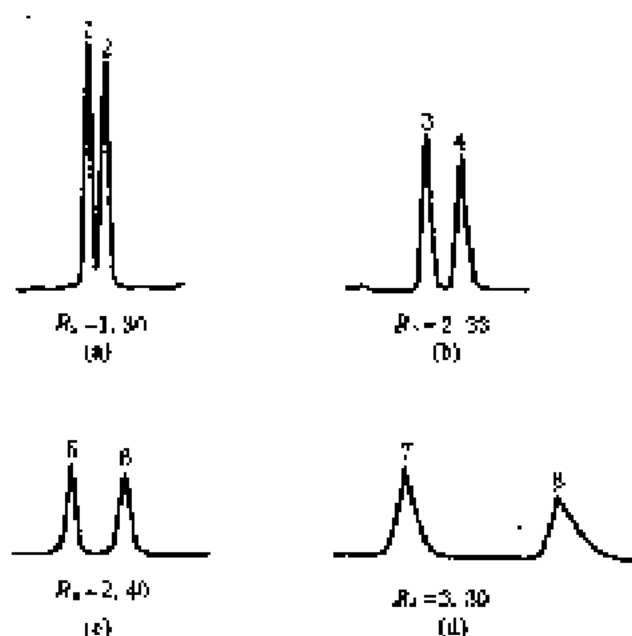


图 13-83 丹磺酰基-D，L-氨基酸拆分色谱图[9]

色谱峰：1—丹磺酰基-L-蛋氨酸；2—丹磺酰基-D-蛋氨酸；3—丹磺酰基-L-正亮氨酸；4—丹磺酰基-D-正亮氨酸；5—丹磺酰基-L-乙基硫氨酸；6—丹磺酰基-D-乙基硫氨酸；7—丹磺酰基-L-α-氨基-正辛酸；8—丹磺酰基-D-α-氨基-正辛酸

色谱柱：填充 Cyclobond Ⅰ 载体，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：20°C

流动相：甲醇＋0.5%TEAA 缓冲液（pH6.2）（体积比＝30：70）

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（254 nm）

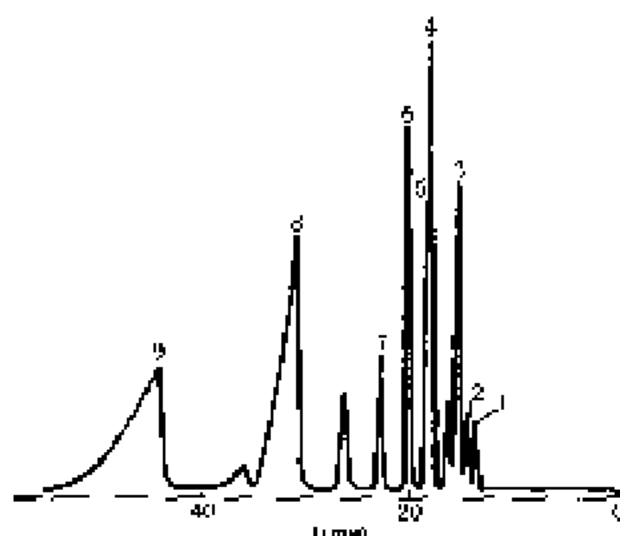


图 13-84　9种β-胡萝卜素立体异构体分离色谱图

色谱峰：1—13,13'-二顺-β-胡萝卜素；2—9,13,13'-三顺-β-胡萝卜素；3—9,13'-二顺-β-胡萝卜素；4—15-顺-β-胡萝卜素；5—9,13-二顺-β-胡萝卜素；6—13-顺-β-胡萝卜素；7—9,9'-二顺-β-胡萝卜素；8—全反-β-胡萝卜素；9—9-顺-β-胡萝卜素

固定相：铝

柱　温：9℃

流动相：己烷

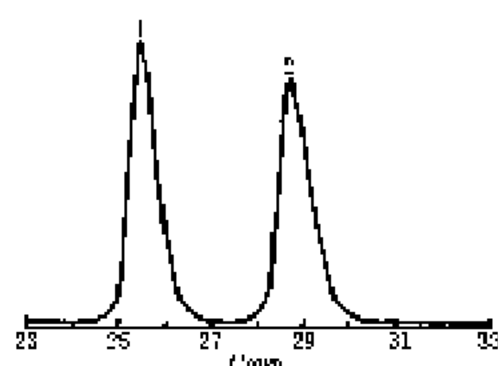


图 13-85　伊布利特对映体外消旋化色谱图

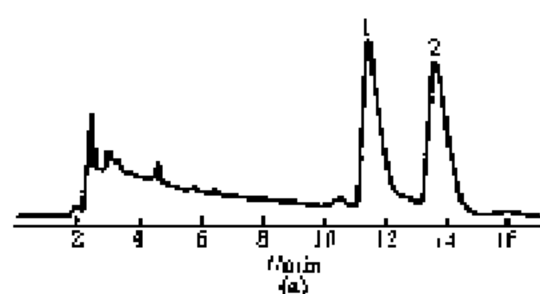
色谱峰：1—(+)-伊布利特-NIC；2—(−)-伊布利特-NIC

色谱柱：Pirkle 柱 250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A 甲醇—0.05%TFA
B 0.05%TFA

流　速：1 ml·min⁻¹

检测器：UV（320 nm）



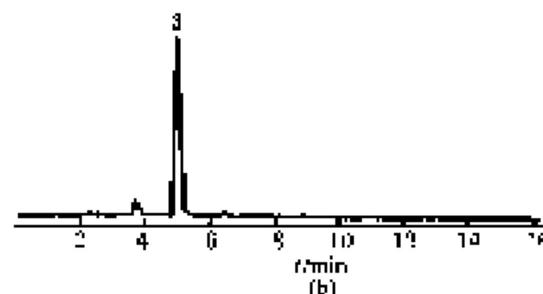


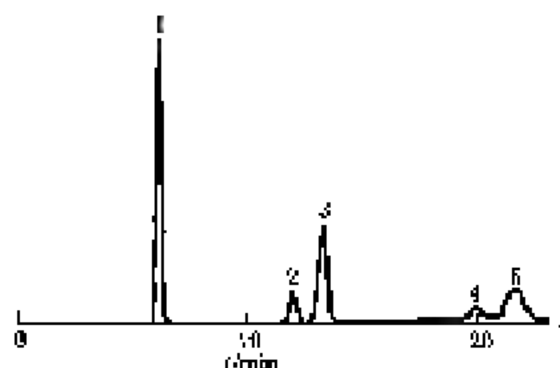
图 13-86　甘氨酸甲酯的手性分离色谱图

色谱峰：1—(−)IA-甘氨酸甲基酯；2—(+)IA-甘氨酸甲基酯；3—(±)IA-甘氨酸甲基酯

色谱柱：(a) Chiralpak AS；
(b) Lichrospher100 RP-18

流动相：(a) 正己烷+2-丙醇（体积比=70∶30）；
(b) 甲醇+0.5%乙酸（体积比=60∶40）

检测器：(a) UV（280 nm）；
(b) UV（210 nm）



色谱峰：1—二苯甲酮；2—顺式高效氯菊酯；3—反式高效氯菊酯；4—顺式苯醚氰菊酯；5—反式苯醚氰菊酯

色谱柱：Waters μBondapak C_{18}，3.9 mm×250 mm，10 μm

流动相：甲醇-水

流　速：0.5～1.0 ml·min⁻¹

柱　温：40℃

检测器：UV（230 nm）

图 13-87　除虫菊酯混合制剂异构体分离色谱图

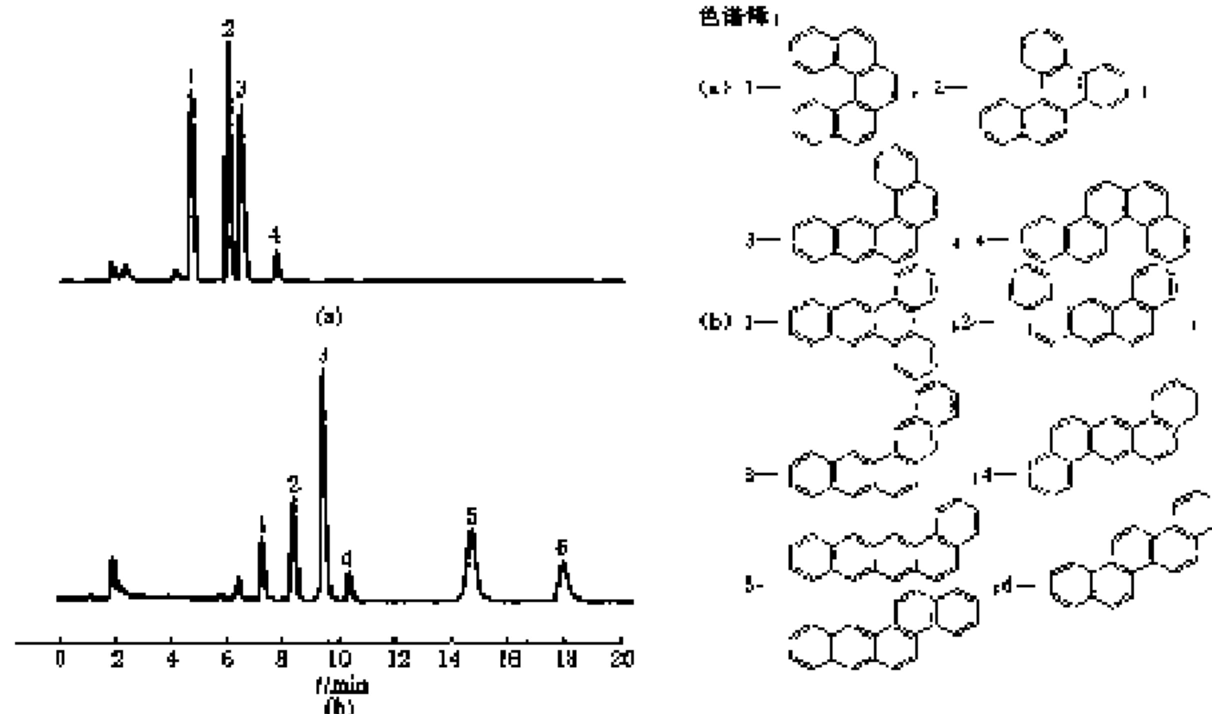


图 13-68 多环芳烃异构体分离色谱图

色谱柱：(a)聚合 C_{18}柱；(b)聚合 C_{18}柱

流动相：(a)梯度洗脱：85%～100%乙腈＋水，5 min内；100%乙腈(5 min后)；

(b)梯度洗脱：85%～100%乙腈＋水，5 min内；100%乙腈(5 min后)

检测器：UV(254 nm)

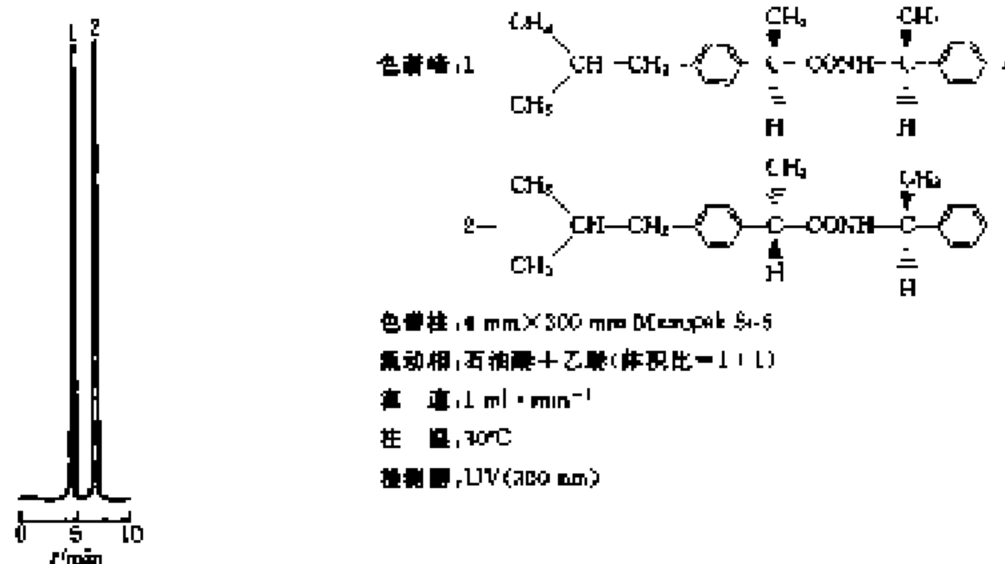
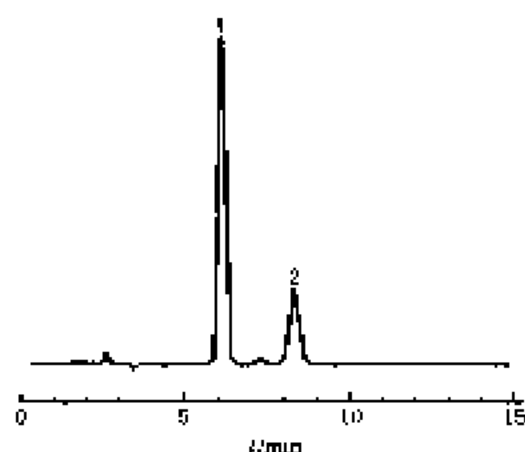


图 13-69 布洛芬手性拆分色谱图



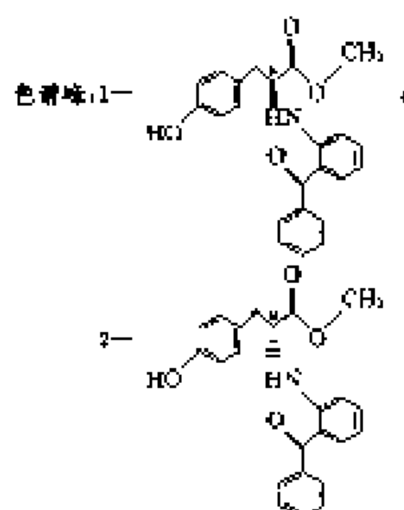


图 13-90　2-[(2-苯基-苯基)胺]-3-(4-羟基苯基)-丙酸甲酯的对映体拆分色谱图[24]

色谱柱：Daicel Chiralcel OD (250 mm×4.6 mm)

流动相：乙醇+正己烷+三氟乙酸（体积比=23∶77∶0.1）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

柱　温：24℃

检测器：UV（230 nm）

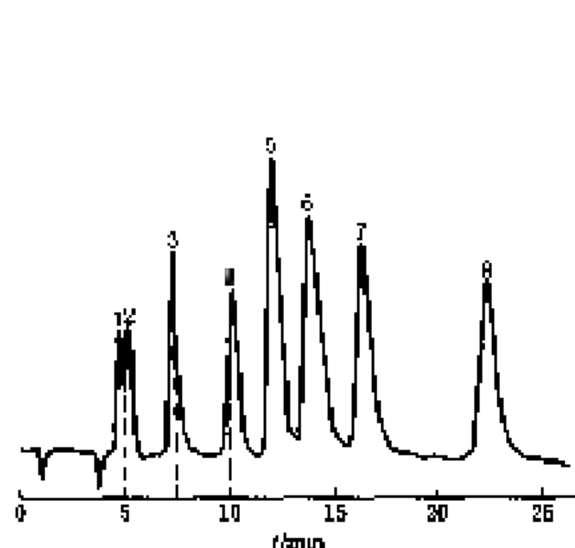


图 13-91　α-羟基酸外消旋物拆分色谱图（一）[43]

色谱峰：1—R-乳酸；2—S-乳酸；3—S-苹果酸；4—R-苹果酸；5—S-酒石酸；6—R-酒石酸；7—R-扁桃酸；8—S-扁桃酸

色谱柱：填充 Develosil ODS-7 载体，250 mm×4 mm（内径）

流动相：8 mmol·L^{-1} Cu(Ac)$_2$+16 mmol·L^{-1} L-缬氨酸+50 mmol·L^{-1} NaAc 缓冲液（pH6.0）

检测器：UV（420 nm）

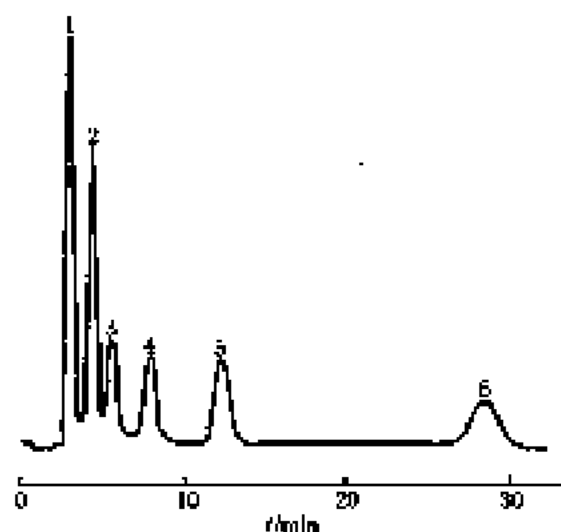


图 13-92　α-羟基酸外消旋物拆分色谱图（二）[43]

色谱峰：1—R-扁桃酸；2—S-扁桃酸；3—R-丙白酸；4—S-丙白酸；5—R-β-苯基乳酸；6—S-β-苯基乳酸

色谱柱：填充 Develosil ODS-7 载体，50 mm×4 mm（内径）

流动相：8 mmol·L^{-1} Cu(OAc)$_2$+16 mmol·L^{-1} L-脯氨酸（pH6.0）

检测器：UV（420 nm）

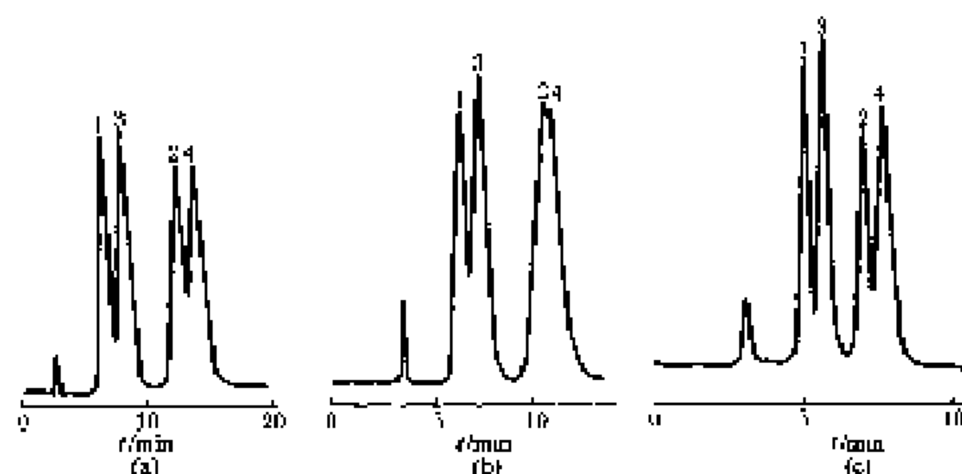
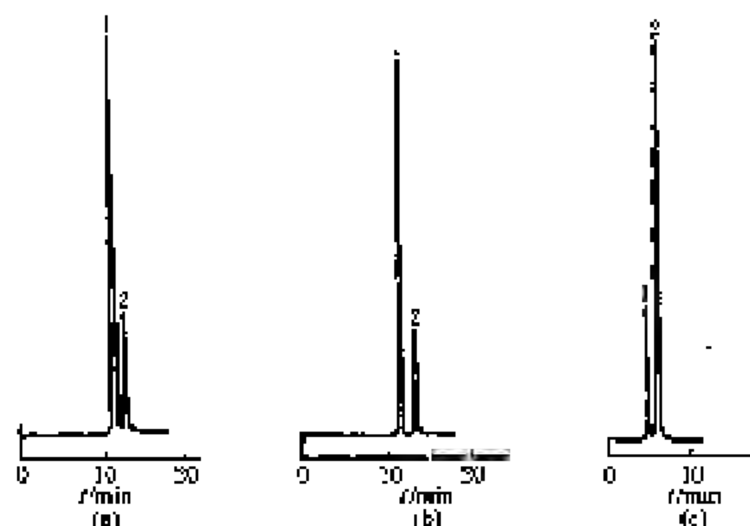


图 13-93 β-MePhe 对映体分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—赤-L-β-MePhe；2—赤-D-β-MePhe；3—苏-L-β-MePhe；4—苏-D-β-MePhe

色谱柱：Chirobiotic T，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm

流动相：水－甲醇（体积比＝10：90）　　检测器：UV（220 nm）



色谱峰：1—DL-苏同系物；2—DL-赤同系物

色谱柱：Vydac 218 TP54 C_{18}

流动相：0.1%乙腈-水

流　速：1.5 mL·min^{-1}

检测器：UV（210 nm）

图 13-94 β-甲基化氨基酸的 DL-苏同系物和 DL-赤同系物分离色谱图[illegible]

(a) β-MePhe　(b) β-MeTrp　(c) β-MeTyr

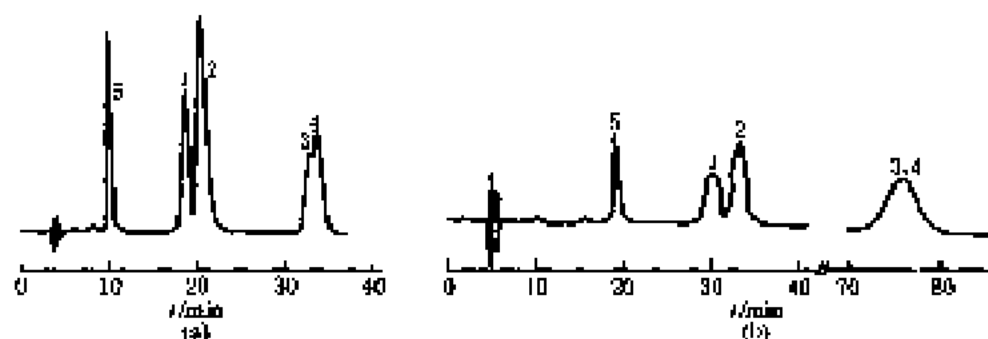


图 13-95 β-甲基苯丙氨酸的 1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺衍生物色谱图[illegible]

色谱峰：1—L-赤-1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺；2—L-苏-1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺；3—D-赤-1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺；4—D-苏-1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺；5—未反应的1-氟-2，4-二硝基苯-5-L-丙氨酰胺

色谱柱：Nucleosil 10C_{18}，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：甲醇＋乙腈＋0.01 mol·L^{-1} KH_2PO_4（pH3）（体积比＝40：7：53）

检测器：UV（340 nm）

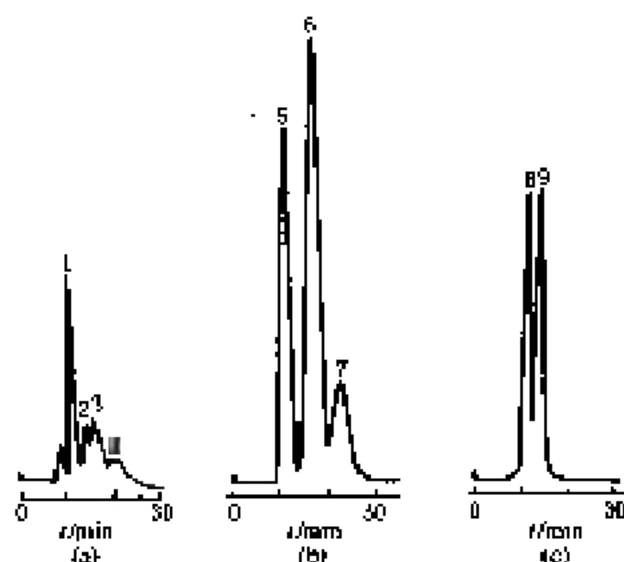


图 13-96　丁苯异构物、三联苯异构物和甲基萘异构物反相分离色谱图[41]

(a) 丁苯异构物；(b) 三联苯异构物；(c) 甲基萘异构物

色谱峰：1—正丁苯；2—仲丁苯；3—异丁苯；4—叔丁苯；5—邻联三苯；6—间联三苯；7—对联三苯；8—1-甲基萘；9—2-甲基萘

色谱柱：(a) 250 mm×1 mm（内径）；

(b) 450 mm×0.53 mm（内径）；

(c) 250 mm×1 mm（内径）

流动相：(a) 甲醇+水（体积比=25∶75）；

(b)、(c) 甲醇+水（体积比=65∶35）

流　速：(a) 30 μl·min^{-1}；

(b)、(c) 15 μl·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

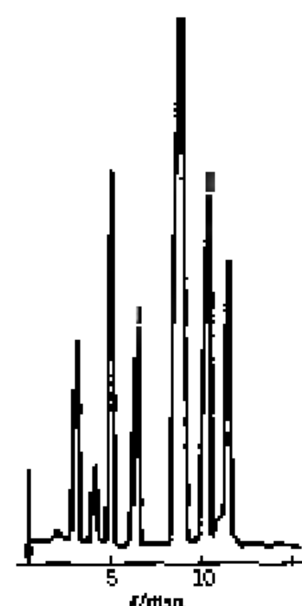


图 13-97　丁烯二酸二丁酯异构体色谱图[44]

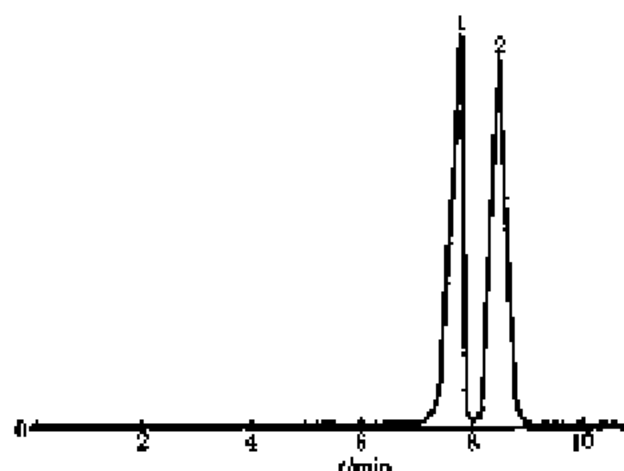
色谱峰：1—反丁烯二酸二丁酯；2—顺丁烯二酸二丁酯

色谱柱：Zorbax CN，4.6 mm（内径）×250 mm

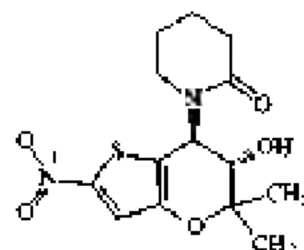
流动相：正己烷+二氯甲烷（体积比=70∶30）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：光电二极管矩阵（254 nm）



色谱峰：1.



2

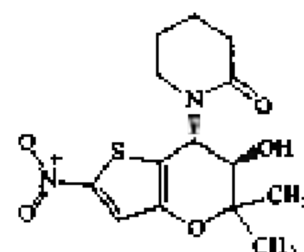


图 13-98　外消旋 RWJ 26629 对映体的分离谱图[44]

色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径），β-CD 柱

流动相：甲醇+乙腈+乙酸铵（体积比=5∶23∶72）

流　速：0.9 ml·min^{-1}

检测器：二极管矩阵紫外

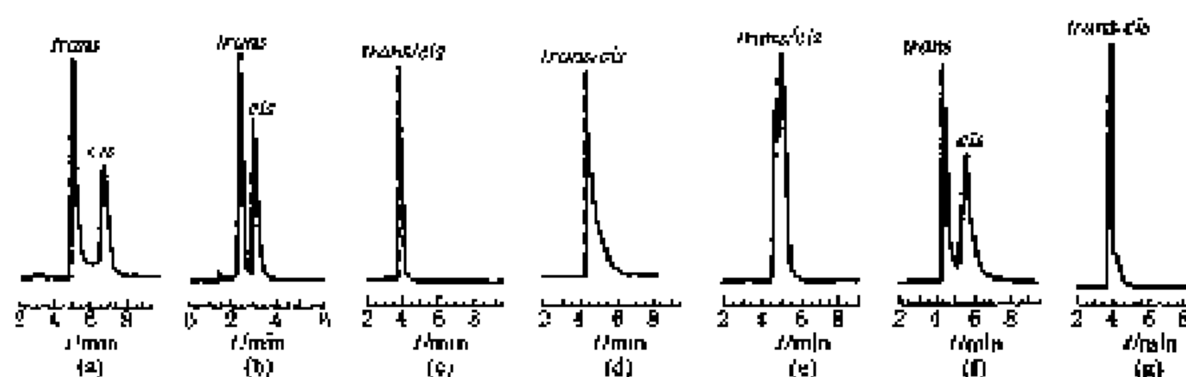


图 13-99　二肽 Ala-Pro 等度分离谱图[47]

色谱峰：二肽 Ala-Pro 反式和顺式化合物

色谱柱：(a) 填充 C_{18}—Si 100，5 μm，250 mm×4 mm（内径）；

(b) 填充 β-CD—Si 100，5 μm，250 mm×4 mm；

(c)～(g) 填充芳烃 Ar-Si 100，250 mm×4.6 mm（内径）

流动相：0.02 mol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$（pH6.2）

流　速：1 ml·min^{-1}

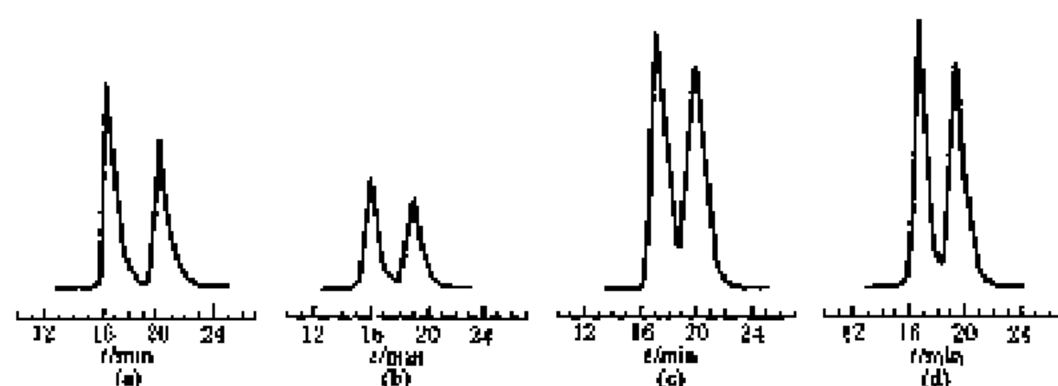
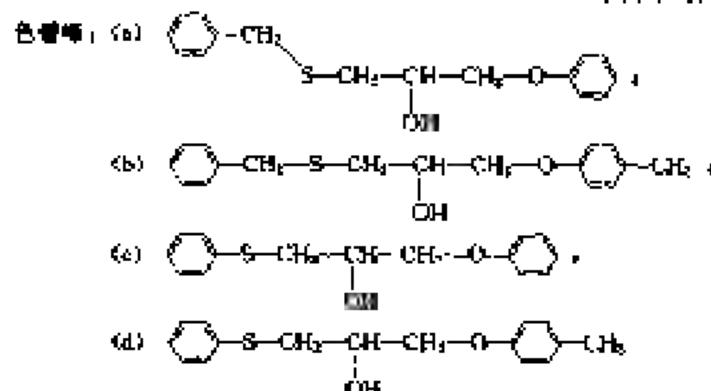


图 13-100　苯基异氰酸酯拆分色谱图（一）[50]

色谱峰：(a)



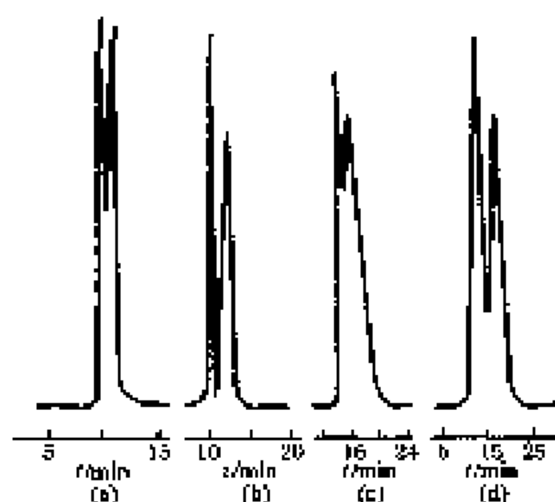
色谱柱：ADMPC，150 mm×4.6 mm

流动相：正己烷/异丙醇（体积比=96∶4）

流　速：1 ml·min^{-1}

柱　温：室温

检测器：UV（254 nm）



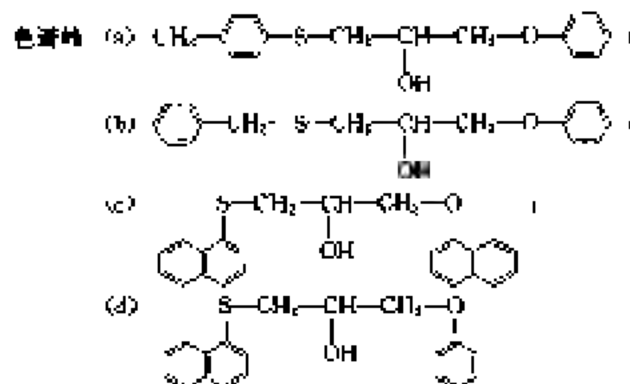


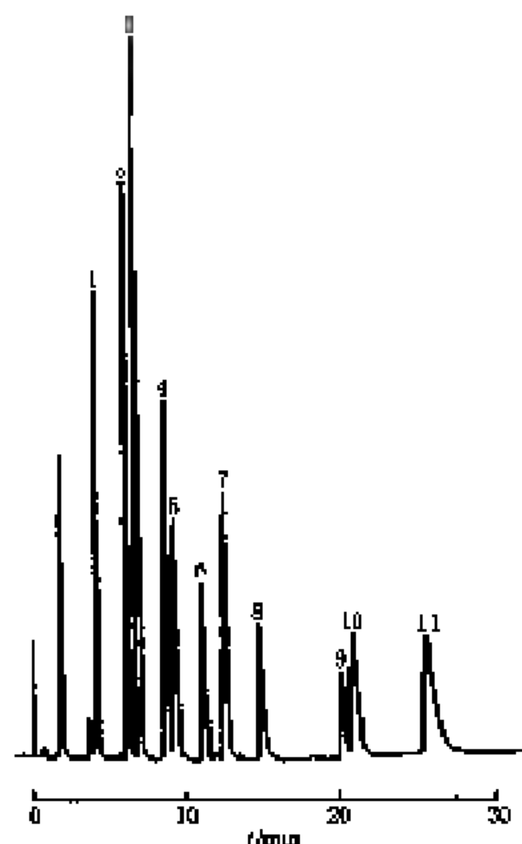
图 13-101 苯基异氰酸酯拆分色谱图（二）[37]

色谱柱：涂敷型直链淀粉手性固定相，150 mm×4.6 mm

流动相：正己烷+异丙醇（体积比=95∶5）

流 速：1 mL·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—二苯并［c，g］菲；2—苯并［g］䓛；3—二苯并［b，g］䓛；4—二苯并［a，c］蒽；5—苯［c］并菲；6—二苯并［a，j］蒽；7—二苯并［b，k］芴；8—二苯并［a，h］蒽；9—苯并［a］并四苯；10—苯并［b］䓛；11—芘

图 13-102 11 种 PAH 同分异构物分离色谱图[40]

色谱柱：Vydac 201TP 柱，填充 C_{18} 载体

流动相：乙腈+水

梯度冲洗：85%乙腈 $\xrightarrow{15\ min}$ 100%乙腈

流 速：1.5 mL·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

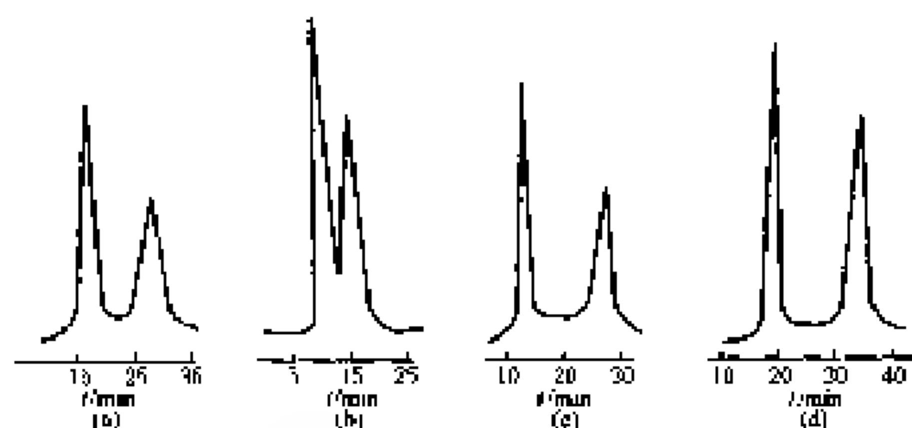
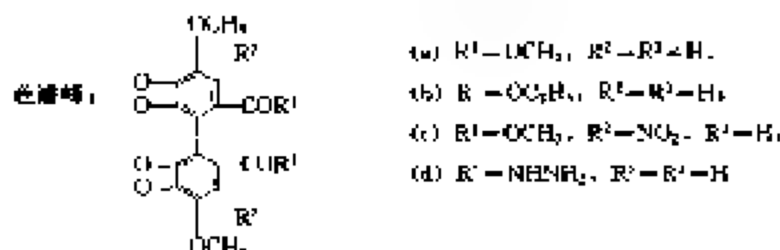


图 13-103　联苯双酯及其衍生物的拆分色谱图[50]



色谱峰：

(a) $R^1=OCH_3$，$R^2=R^3=H$；

(b) $R^1=OC_2H_5$，$R^2=R^3=H$；

(c) $R^1=OCH_3$，$R^2=NO_2$，$R^3=H$；

(d) $R^1=NHNH_2$，$R^2=R^3=H$

色谱柱：CDMPC，150 mm×4.6 mm

流动相：正己烷+异丙醇（体积比=70∶30）

流　速：1.0 ml·min⁻¹

柱　温：室温

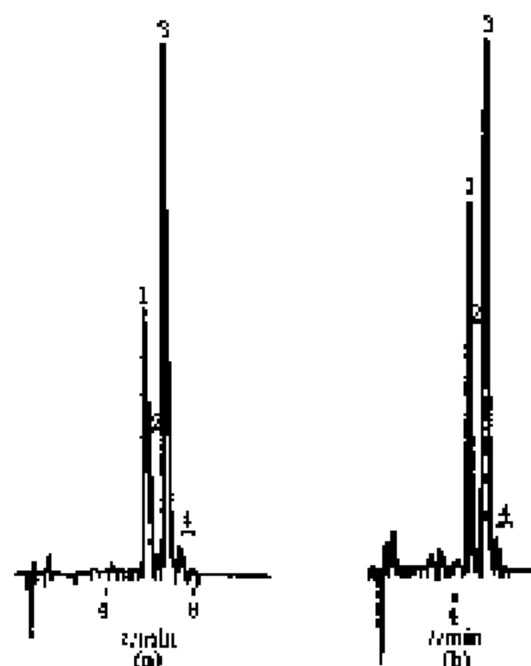


图 13-104　不同色谱柱上胡萝卜萃取物色谱图[51]

色谱峰：1—全反式-α-胡萝卜素；2—α-胡萝卜素顺式异构体；3—全反式-β-胡萝卜素；4—β-胡萝卜素顺式异构体

色谱柱：(a) 填充 ChromTech CT Sil C_{18}载体，150 mm×4.6 mm（内径）；

　　　　(b) 填充 Spherisorb ODS-2 载体，100 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：22℃

流动相：CO_2+甲醇（体积比=90∶10），压力为 15MPa

流　速：4 ml·min⁻¹

检测器：UV（450 nm）

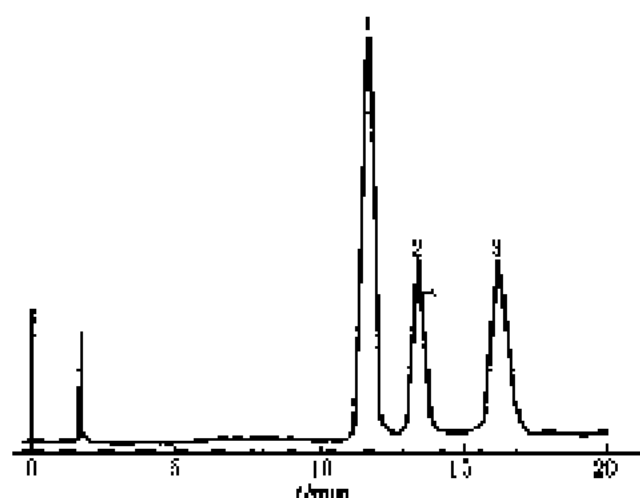


图 13-105　与三氟乙酸酐衍生化的前体Ⅰ及其旋光同系物色谱图（一）[32]

前体Ⅰ：



色谱峰：1—顺-桂式；2—顺-桥接式；3—反-左式

色谱柱：Spherisorb Silica，5 μm

流动相：2%乙醇+己烷

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (210 nm)



图 13-106　与三氟乙酸酐衍生化的前体Ⅰ及其旋光同系物色谱图（二）[130]

色谱峰：1—顺-桂式；2—顺-桥接式；3—反-左式

色谱柱：Sumipax OA 1000

流动相：0.5%乙醇+己烷

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV (210 nm)

① 前体Ⅰ结构见图 13-105。

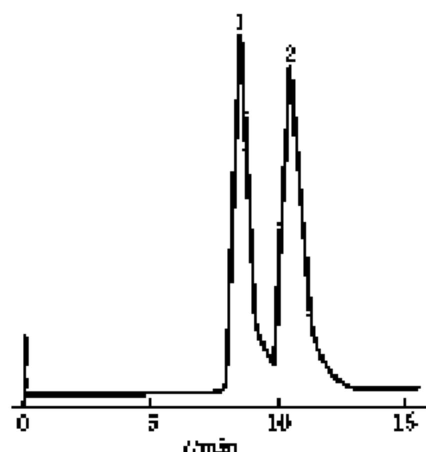


图 13-107　与三氟乙酸酐衍生化的前体Ⅰ及其旋光同系物色谱图（三）[32]①

色谱峰：1—*SSS*；2—*RRR*

色谱柱：Chiralpak OT (+)

流动相：甲醇+水（体积比=10∶1）

流　速：1 ml·min^{-1}

检测器：UV (254 nm)

① 前体Ⅰ结构见图 13-105。

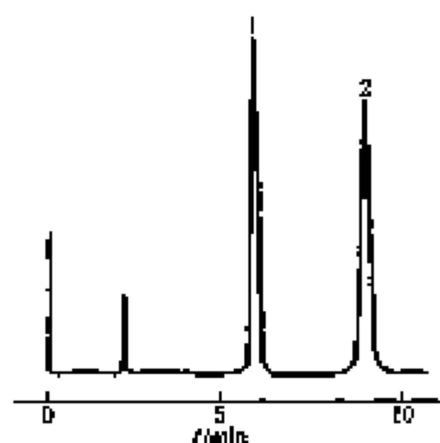
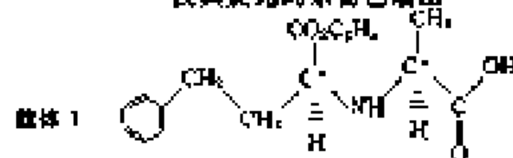


图 13-108　与氯甲烷衍生化的前体Ⅰ及其旋光同系物色谱图[32]

前体Ⅰ



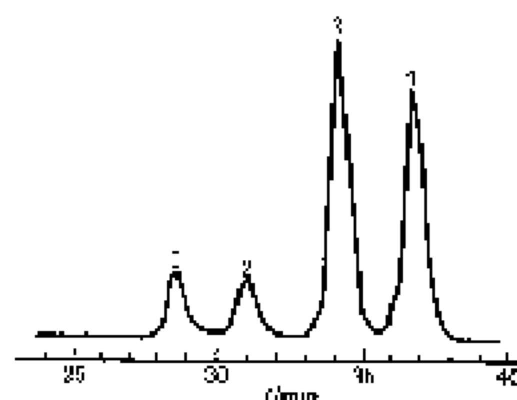
色谱峰：1—*SR*+*RS*；2—*SS*+*RR*

色谱柱：Nucleosil 50-5，5 μm

流动相：0.4%乙醇+己烷

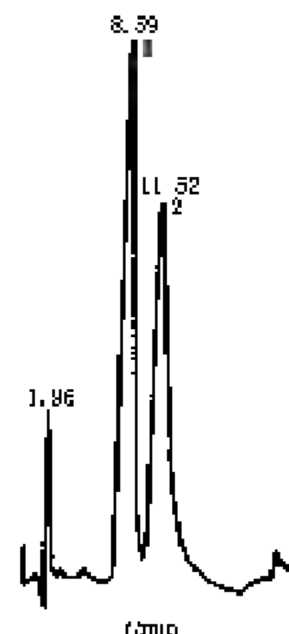
流　速：2 ml·min^{-1}

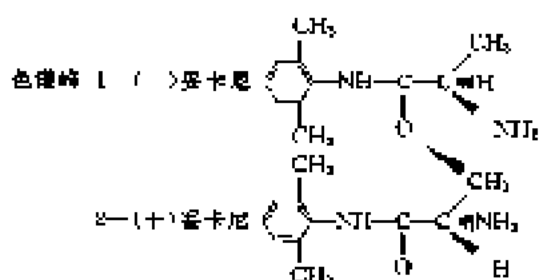
检测器：UV (210 nm)



色谱峰：1，2—BA 反式-10，11-二氢二醇对映体；3，4—BA 反式-8，9-二氢二醇对映体
色谱柱：填充 γ-氨丙基硅烷化硅（离子键）载体，250 mm×4.6 mm（内径）
流动相：10%乙醇+乙腈（体积比=2∶1），己烷
流　速：2 ml·min⁻¹
检测器：UV（254 nm）

图 13-109　BA 反式-10，11-二氢二醇对映体和 BA 反式-8，9-二氢二醇对映体分离色谱图





色谱峰：1—(−)妥卡尼；2—(+)妥卡尼
色谱柱：填充 Crownpak CR(+)载体，250 mm×4.6 mm(内径)
柱　温：24℃
流动相：0.1 mol·L⁻¹高氯酸
流　速：1.0 ml·min⁻¹
压　强：3.46×10⁶ Pa
检测器：UV（254 nm）

图 13-110　外消旋妥卡尼的 LC 分离色谱图

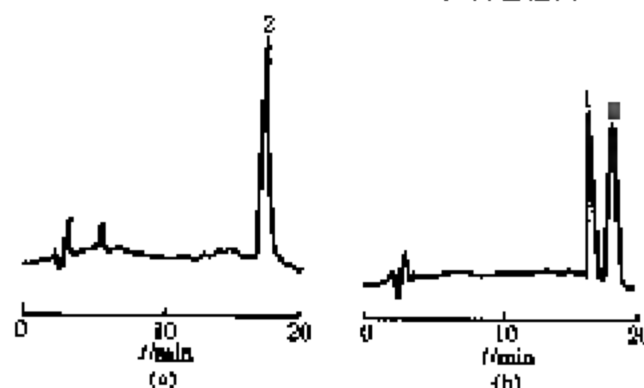
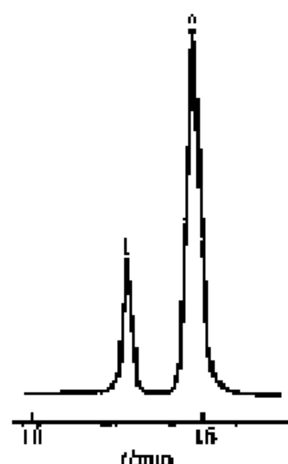


图 13-111　苯丙氨酸的离子对拆分色谱图

色谱峰：(a) L-苯丙氨酸衍生物；(b) DL-苯丙氨酸衍生物
色谱柱：ZORBAX SIL，250 mm×4.6 mm
流动相：溶剂 A：二氯甲烷+正戊醇（体积比=99∶1）
　　　　溶剂 B：含 0.35 mmol·L⁻¹奎宁的冰乙酸溶液
运行溶剂：溶剂 A+溶剂 B（体积比=100∶3）
流　速：[illegible] ml·min⁻¹
检测器：二极管阵列（190 nm～350 nm）



色谱峰：1—反式-10，11-二氢二醇；2—反式-8，9-二氢二醇
色谱柱：填充 γ-氨丙基硅烷化硅胶（共价键）载体，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm
流动相：10%乙醇+乙腈（体积比=2∶1），己烷
流　速：2 ml·min^{-1}
检测器：UV（254 nm）

图 13-112　苯并[a]芘反式-10，11-二氢二醇和苯并[a]芘反式-8，9-二氢二醇正相分离色谱图[18]

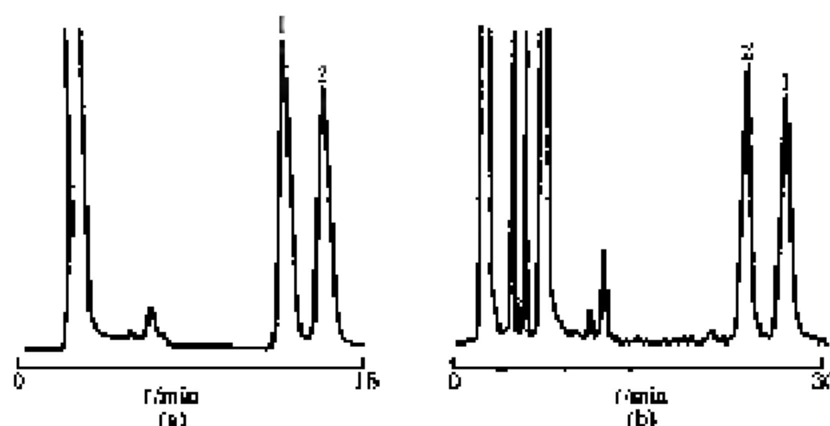


图 13-113　甘氨酸二肽对映体拆分色谱图[19]

(a) FMOC-Gly-Nva；(b) FMOC-Gly-Asp

色谱峰：1—LL 型 Gly 二肽；2—DD 型 Gly 二肽
色谱柱：(a) α-环糊精，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm；(b) β-环糊精，250 mm×4.6 mm（内径），5 μm
流动相：(a) 乙腈+甲醇+三乙胺+乙酸（体积比=850∶150∶12∶3）；
　　　　(b) 乙腈+甲醇+三乙胺+乙酸（体积比=900∶100∶6∶1.5）
流　速：1 ml·min^{-1}
检测器：荧光检测（λ_{ex}=266 nm，λ_{em}=315 nm）

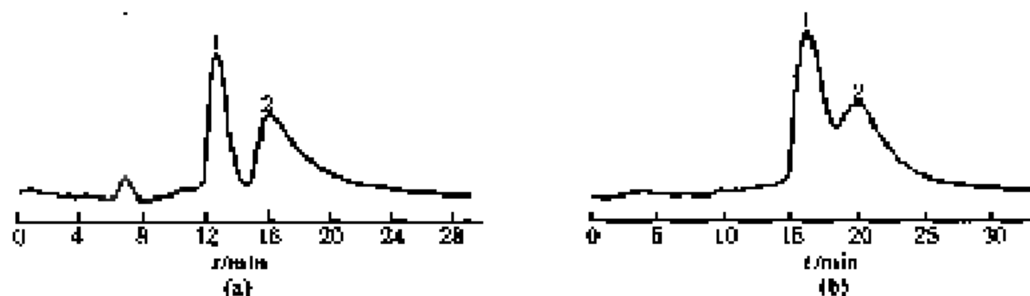
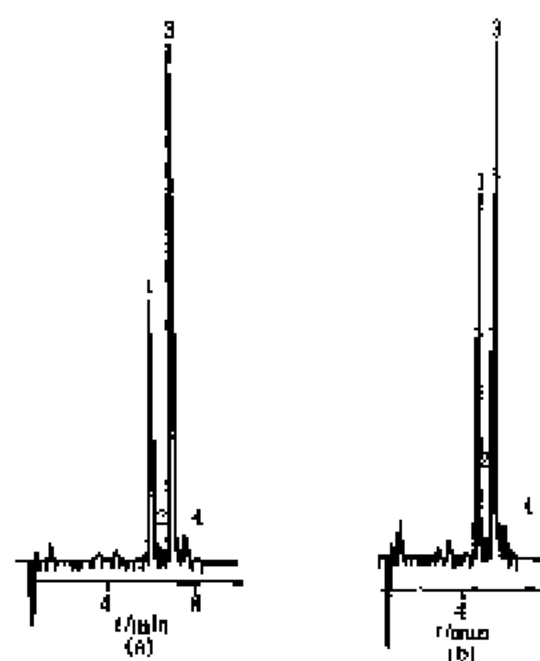


图 13-114　分子烙印手性固定相对衍生化氨基酸的手性拆分色谱图[20]

色谱峰：(a) 1—苄甲氧羰基-D-Ala；2—苄甲氧羰基 L-Ala；
　　　　(b) 1—苄甲氧羰基-D-Ser；2—苄甲氧羰基 L-Ser
色谱柱：分子烙印固定相（250 mm×4 mm）
流动相：乙腈+乙酸（体积比=99.5∶0.5）
流　速：0.5 ml·min^{-1}
检测器：UV（254 nm）



色谱峰：1—全反式-α-胡萝卜素；2—α-胡萝卜素顺式异构体；3—全反式-β-胡萝卜素；4—β-胡萝卜素顺式异构体

色谱柱：填充 Spheri-5 ODS-5A 载体，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：22℃

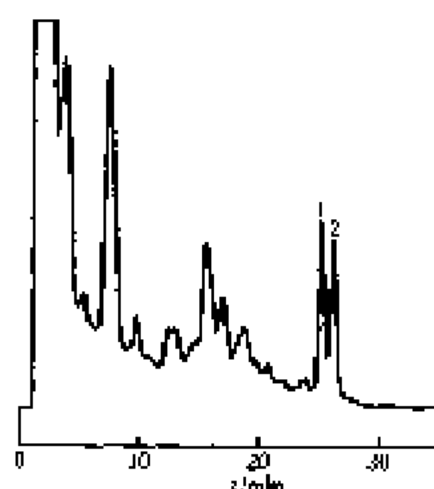
流动相：(a) CO_2+甲醇（体积比=85∶15）；

(b) CO_2+甲醇+乙腈（体积比=85∶7.5∶7.5），压力为 15 MPa

流　速：3 mL·min⁻¹

检测器：UV（450 nm）

图 13-115　胡萝卜萃取物色谱图[ ]



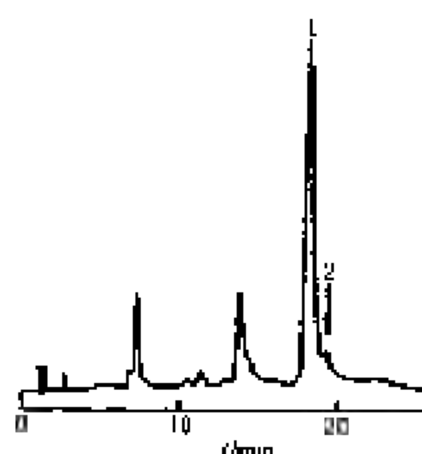
色谱峰：1—（−）柚苷；2—（+）柚苷

色谱柱：填充 CTA-diol 载体，125 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A 水+甲醇+乙酸（体积比=90∶10∶1）；B 甲醇

线性梯度冲洗：10%B $\xrightarrow{5\ min}$ 10%B $\xrightarrow{30\ min}$ 80%B

图 13-116　西红柿萃取液中柚苷配基的分离色谱图[57]



色谱峰：1—（−）圣草酚；2—（+）圣草酚

色谱柱：填充 CTA-diol 载体，125 mm×4.6 mm（内径）

流动相：A 正己烷+2-丙醇（体积比=9∶1）

B 甲醇+2-丙醇（体积比=2∶1）

线性梯度冲洗：20%B $\xrightarrow{3\ min}$ 20%B $\xrightarrow{20\ min}$ 60%B

图 13-117　北斗壳中圣草酚对映体的分离色谱图[ ]

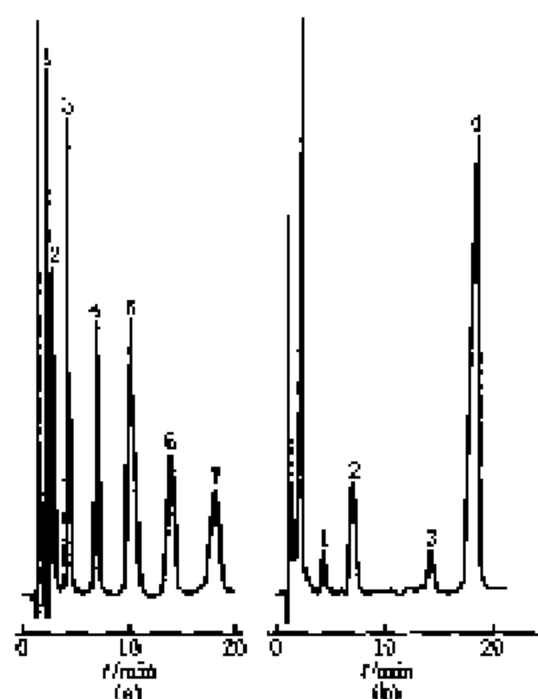


图 13-118　单胺类递质及其代谢产物色谱图[42]

(a) 标样；(b) 兔脑透析液

色谱峰：(a) 1—去甲肾上腺素 (NA)；2—肾上腺素 (A)；3—多巴胺 (DA)；4—3,4-二羟基苯乙酸 (DOPAC)；5—5-羟色胺 (5-HT)；6—5-羟吲哚乙酸 (5-HIAA)；7—高香草酸 (HVA)。

(b) 1—DA；2—DOPAC；3—5-HIAA；4—HVA

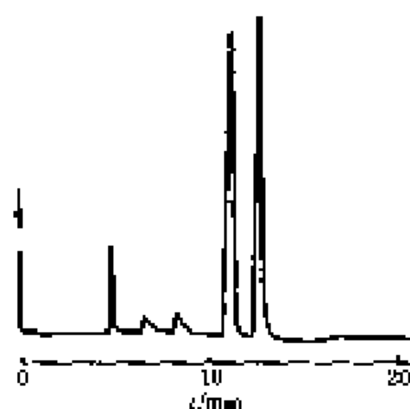
色谱柱：Nova Pak C_{18}柱，150 mm×3.9 mm（内径），粒径 4 μm

流动相：A 25 mmol·L^{-1}乙酸钠缓冲液 (pH6.8) + 甲醇 + 四氢呋喃（体积比=800：192：8）

B 25 mmol·L^{-1}乙酸钠缓冲液 (pH6.8) + 甲醇（体积比=250：750）

流　速：0.8 ml·min^{-1}

检测器：电化学



色谱柱：Nucleosil 100-5 (5 μm)，50cm×0.1cm（内径）

柱　温：30℃

流动相：己烷-氯仿（体积比=30：70），含 33.36 mmol N,N'-二异丙基酒石酸酰胺

流　量：60 μl·min^{-1}

检测器：UV (254 nm)

图 13-119　N-叔丁基-β-羟基-α-苯基丙酰胺对映体拆分色谱图[26]

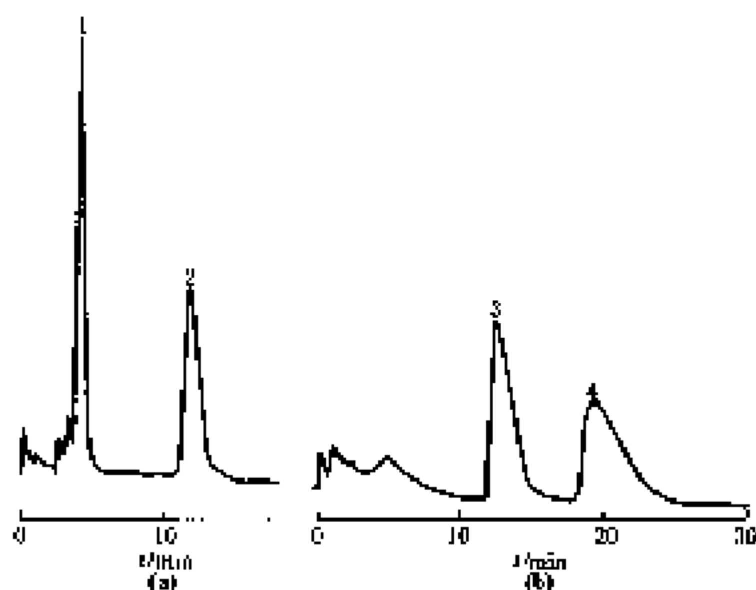


图 13-120　氨基酸手性拆分色谱图[illegible]

(a) 苯二（甲）酰亚氨基-D、L-苏氨酸（0.5 mmol）；

(b) N-苯甲酰基-D、L-丝氨酸（0.5 mmol）

色谱峰：1—苯二（甲）酰亚氨基-D-苏氨酸；2—苯二（甲）酰亚氨基-L-苏氨酸；3—N-苯甲酰基-D-丝氨酸；4—N-苯甲酰基-L-丝氨酸

色谱柱：填充 BSA-Silica 载体，150 mm×4.6 mm（内径），10 μm

流动相：(a) 磷酸盐缓冲液（50 mmol·L^{-1}）－2.0%丙醇（pH7.10）

(b) 磷酸盐缓冲液（50 mmol·L^{-1}）＋2.0%丙醇（pH5.78）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（225 nm）

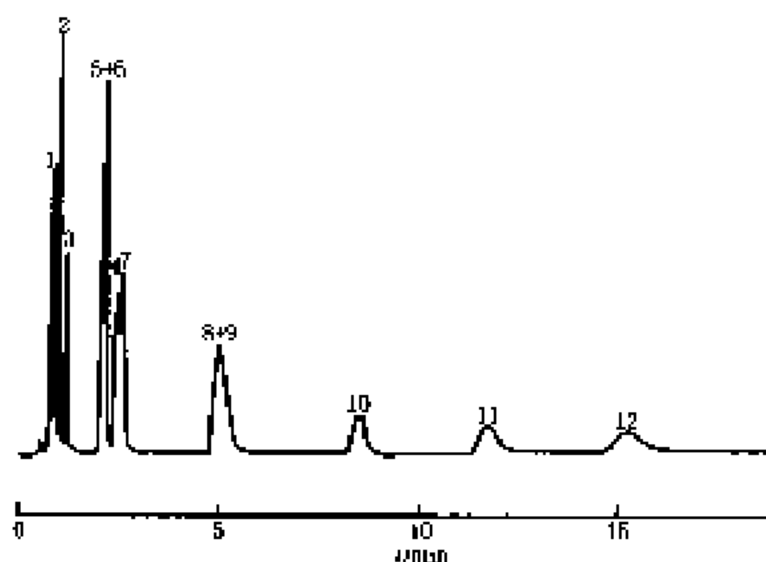


图 13-121　硅胶反相柱上 6 种外消旋氨基酸分离色谱图[illegible]

色谱峰：1—L-Ala；2—L-Glu；3—D-Ala；4—D-Glu；5—L-Met；6—L-Phe；7—L-Leu；8—D-Met；9—D-Leu；10—L-Phe；11—D-苯基甘氨酸；12—D-Phe

色谱柱：硅胶

流动相：0.01 mol·L^{-1}高氯酸

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：紫外

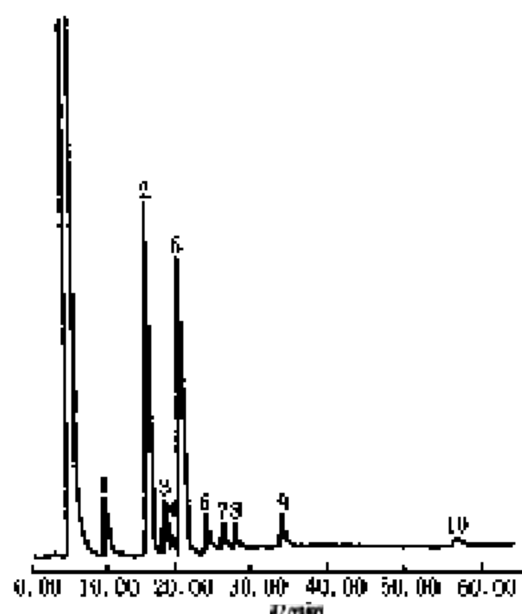


图 13-122　胆固醇及其氧化产物色谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—3β，5α，6β-胆甾烷三醇；2—25-羟基胆固醇；3—7β-羟基胆固醇；4—7-酮-胆固醇；5—6-酮-胆固醇；6—5，6α-环氧胆固醇；7—5，6β-环氧胆固醇；8—4，6-二烯-3-酮-胆固醇；9—胆固醇；10—3，5-二烯-胆固醇

色谱柱：C_{18}柱

流动相：乙腈+甲醇（体积比=55∶45）

流　速：0.5~3.0 ml·min^{-1}

检测器：RI

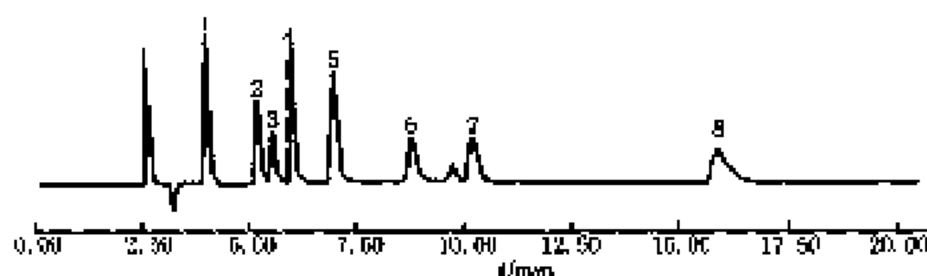


图 13-123　胆固醇及其氧化产物色谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—胆固醇；2—4，6-二烯-3-酮-胆固醇；3—5，6α-环氧胆固醇；4—5，6β-环氧胆固醇；5—25-羟基胆固醇；6—7-酮-胆固醇；7—6-酮-胆固醇；8—3β，5α，6β-胆甾三醇

色谱柱：氰基柱

流动相：己烷+2-丙醇（体积比=95∶5）

流　速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：RI

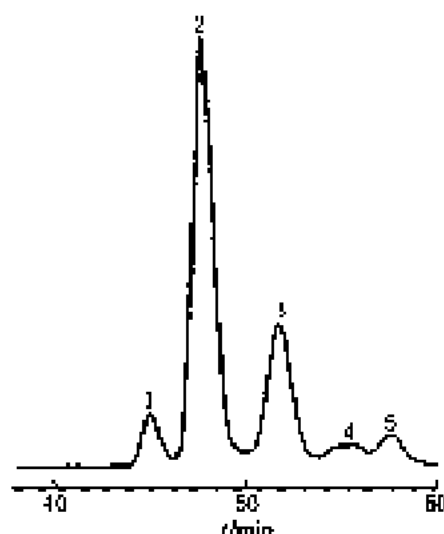


图 13-124　胡萝卜素异构体色谱图

色谱峰：1—反-α-胡萝卜素；2—反-β-胡萝卜素；3—9-顺-β-胡萝卜素；4—13-顺-β-胡萝卜素；5—15-顺-β-胡萝卜素

色谱柱：Suplex pKb 100，250 mm×4.6 mm，5 μm

　　　　Supelguard 柱，20 mm×4.6 mm，5 μm

柱　温：0℃

流动相：甲醇+甲基叔丁基醚+水（体积比=80∶30∶5）

流　速：0.8 mL·min^{-1}

检测器：UV（452 nm）

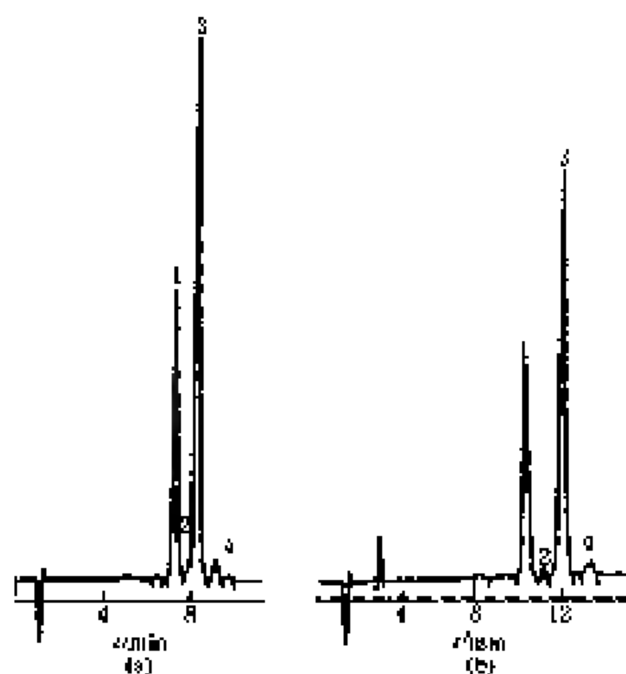


图 13-125　胡萝卜萃取物不同条件超临界色谱图比较

色谱峰：1—全反式 α-胡萝卜素；2—α-胡萝卜素顺式异构体；3—全反式 β-胡萝卜素；4—β-胡萝卜素顺式异构体

色谱柱：填充 Nucleosil C_{18} 柱，250 mm×4.6 mm（内径）

柱　温：32℃

流动相：(a) CO_2+甲醇（体积比=85∶15），压力 15 MPa；

　　　　(b) CO_2+甲醇（体积比=95∶5），压力 20 MPa

流　速：3 mL·min^{-1}

检测器：UV（450 nm）

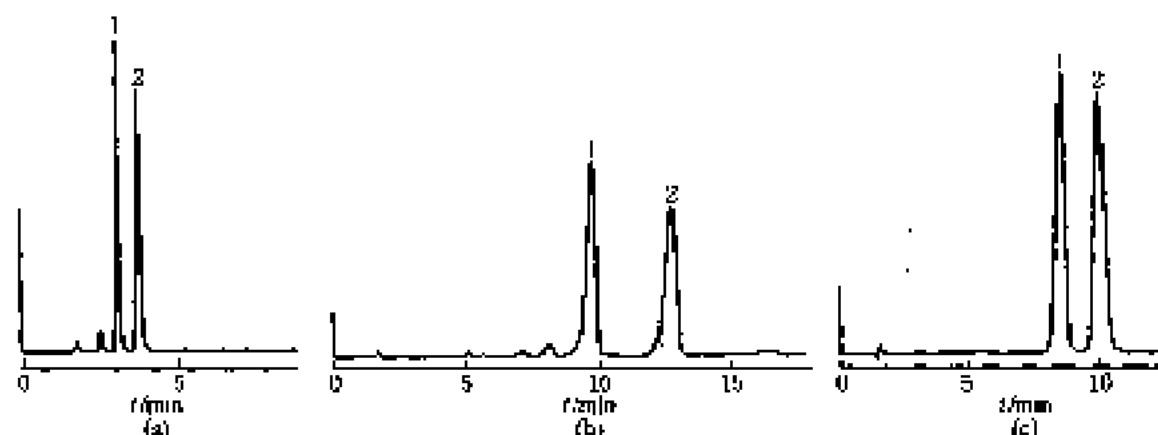


图 13-126　衍生化的消旋普萘洛尔的分离色谱图[45]

(a) 用 (S) -苯乙基异氰盐衍生，(b) 用 D-2,3,4,6-四对乙酰-β-D-吡喃葡萄糖衍生，(c) 用樟脑酸氯化物衍生

色谱峰　1—R-普萘洛尔，2—S-普萘洛尔

色谱柱：Lichrosorb Si60，120 mm×5.6 mm (内径)，5 μm

流动相：甲醇＋二氯甲烷＋戊烷 (体积比＝1.5∶50∶48.5)

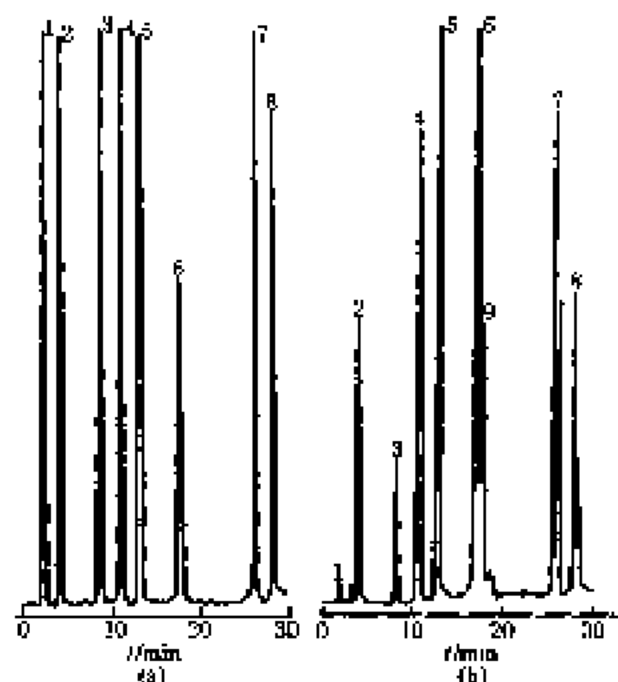


图 13-127　氨基酸衍生化产物色谱图[46]

(a) 标样，(b) 鸡尿液透析液

色谱峰：1—门冬氨酸，2—谷氨酸，3—门冬酰胺，4—丝氨酸，5—谷氨酰胺，6—甘氨酸，7—牛磺酸，8—γ-氨基丁酸，9—苏氨酸

色谱柱：Nova park C_{18}柱，150 mm×3.9 mm (内径)，粒径 4 μm

流动相：A 25 mmol·L^{-1}乙酸钠缓冲液 (pH6.8) ＋甲醇＋四氢呋喃 (体积比＝800∶192∶8)

B 25 mmol·L^{-1}乙酸钠缓冲液 (pH6.8) ＋甲醇 (体积比＝1350∶750)

流　速：0.8 mL·min^{-1}

检测器：电化学 LC 4B/117 型

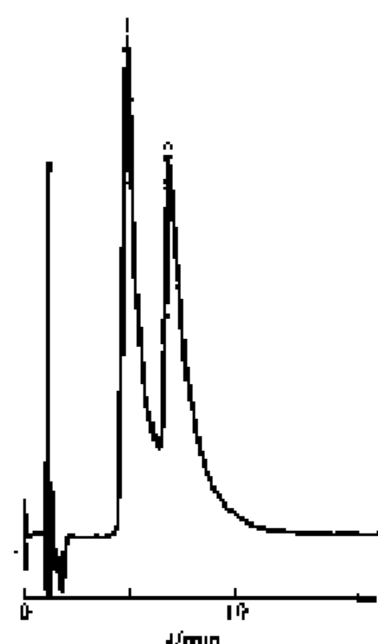


图 13-128　旋光去甲羟安定色谱图[46]

色谱峰：1—(＋)去甲羟安定，2—(－)去甲羟安定

色谱柱：填充 Nucleosil NH_2，100 mm×4.6 mm (内径)

流动相：4.8 mmol·L^{-1} β-CD＋0.05 mol·L^{-1} NH_4AC (用乙酸调节 pH 至 4.7)

流　速：1 mL·min^{-1}

进样器：Rheodyne 7125，20 μL

进样量：670 pmol

检测器：LDC spectromonitor Ⅱ可变波长

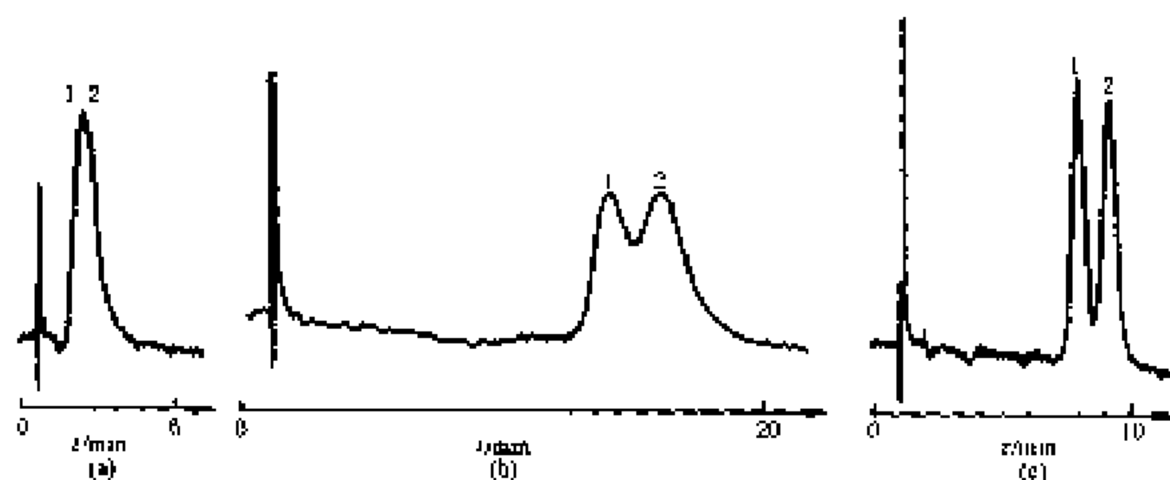


图 13-129　旋光性叔丁喘宁色谱图[illegible]

色谱峰：1—(+)叔丁喘宁；2—(−)叔丁喘宁

色谱柱：填充 (a) kromasil™ C_{18} (b) spherisorb ODS2 C_{18} (c) NucleosilC_{18}载体，100 mm×4.6 mm (内径)

流动相：8.4 mmol·L^{-1} β-CD+0.05 mol·L^{-1} NH_4Ac (用乙酸调节 pH 至 6)

流　速：1 ml·min^{-1}

进样量　200 pmol

检测器：UV (254 nm)

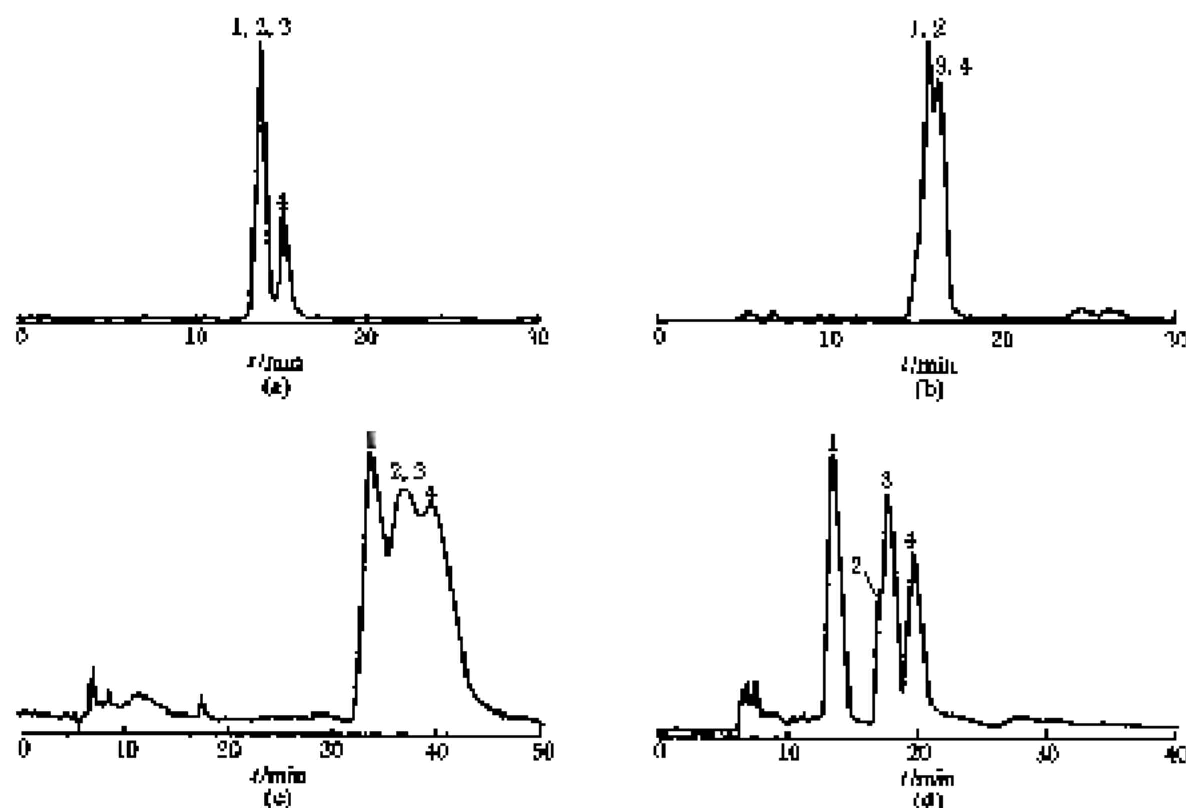


图 13-130　消旋物 N,N'-1,2-乙二酰基丙氨酸二乙酯的分离色谱图[illegible]

色谱峰：1,4—内消旋 N,N'-1,2-乙二酰基丙氨酸二乙酯；2—D,D-N,N'-1,2-乙二酰基丙氨酸二乙酯；3—L,L-N,N'-1,2-乙二酰基丙氨酸二乙酯

色谱柱：α-环糊精柱，500 mm×4.6 mm

流动相：甲醇+水 (体积比=25:75)

流　速：0.5 ml·min^{-1}

检测器：UV (210 nm)

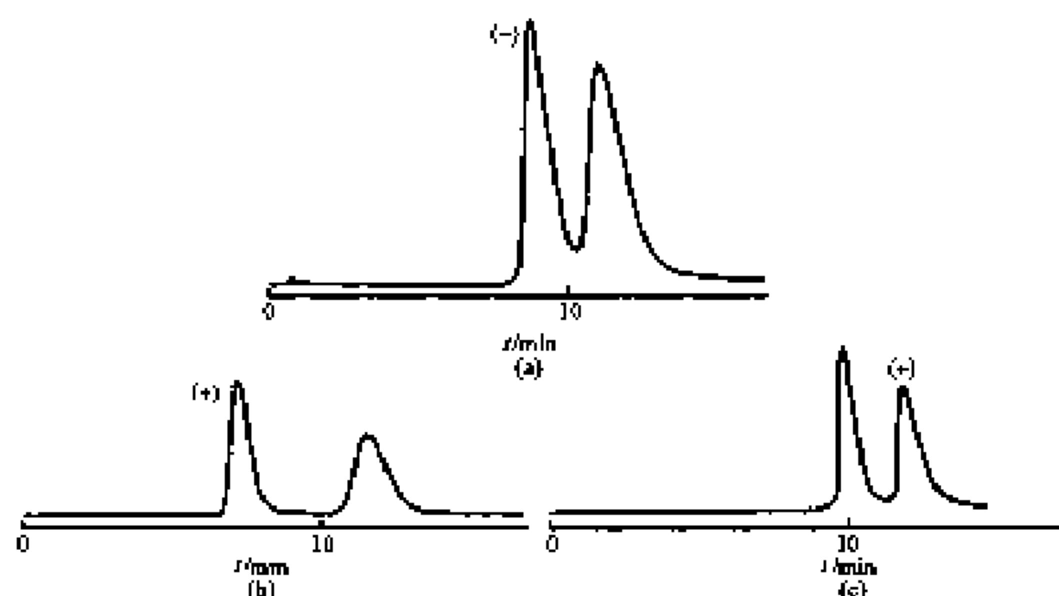


图 13-131 奥美拉唑分离色谱图

色谱峰：奥美拉唑对映体

色谱柱：(a) 填充 Chiral-AGP，100 mm×4.0 mm（内径）；(b) 填充 BSA-DSC，100 mm×4.6 mm（内径）；(c) 填充 Ultron ES-OVM，150 mm×4.6 mm（内径）

柱 温：室温

流动相：2-丙醇，(a)、(b)、(c) 浓度分别为 φ=3%、φ=5% 和 φ=10%

流 速：1.0 ml·min^{-1}

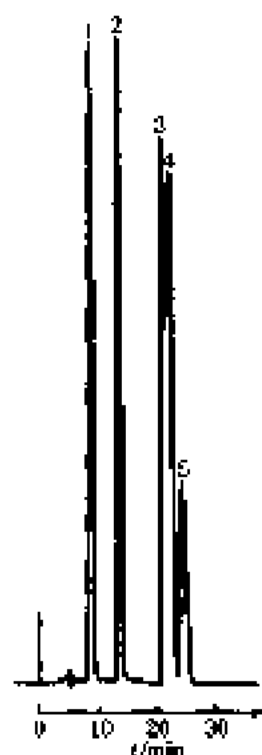


图 13-132 溶剂 I 分离 o-、m-和 p-NO_2 取代的顺反异构体色谱图

色谱峰：1—顺式 m-和 p-NO_2 异构体，2—顺式 o-NO_2 异构体，3—反式 p-NO_2 异构体，4—反式 m-NO_2 异构体，5—反式 o-NO_2 异构体

色谱柱：YWG-SiO_2，150 mm×5 mm（内径），5 μm

流动相：氯仿+乙烷+乙腈（体积比=15∶85∶0.04）

流 速：0.63 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

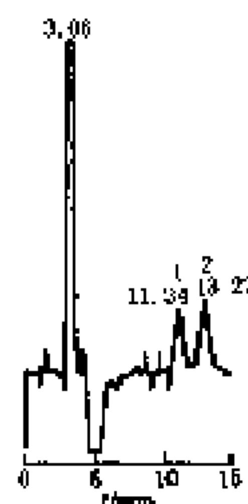


图 13-133 噻利洛尔对映体拆分色谱图

色谱峰：1—S-噻利洛尔，2—R-噻利洛尔

色谱柱：纤维素衍生物型手性固定相，4.6 mm（内径）×250 mm

柱 温：30℃

流动相：正己烷+1，2-二氯乙烷+乙醇（体积比=77∶21∶2）

流 速：1.0 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

参 考 文 献

1 Hu W, Hasebe K, Reynolds D M, Haraguchi H. Analytica Chimica Acta, 1997; 353: 143
2 J High Resol Chromatogr, 1997, 20
3 Robert L, St Claire Ⅲ. Anal Chem, 1991; 53, 2657
4 Haynes P A, Sherman D, Greig L G, et al. J Chromatogr, 1991, 588: 107
5 Gross F, Swing W G, Gerber G. J Chromatogr, 1991, 552, 193
6 J Chrom Sci, 1991; 29: 116
7 Rizzi A, Guerra M, Reusser P. Chromatographia, 1991, 38(7/8)
8 J Chrom Sci, 1992; 30: 243
9 Andrew J A. J Chromatogr, 1990; 499: 177
10 Hu W, Haraguchi H, Takeuchi T. J Chromatogr, 1991, 557, 441
11 Supelco Inc. J Chrom Sci, 1988; 26, 651
12 J Chrom Sci, 1992, 30, 529
13 J Chrom Sci, 1990, 28; 257
14 E I DuPont de Nemours & Co. J Chrom Sci, 1989, 27, 336
15 J Chrom Sci, 1989, 27, 50
16 Itoh H, Kinoshita T, Nimura N. J Chromatogr A, 1994, 662, 95
17 Toosohaas. J Chrom Sci, 1989, 27, 155
18 Long A R, Short C R, Barker S A. J Chromatogr, 1990; 502: 87
19 J Chrom Sci, 1992, 30, 456
20 J Chrom Sci, 1990, 28, 390
21 Bilitewski U, Fuchs D, Bosset J O. Chromatographia, 1991, 31(9/10)
22 Jones A T, Keen J N, Roberts N B. J Chromatogr, 1993, 615, 207
23 Deen A N A, Cecchini D J, Giese P W. J Chromatogr, 1992, 600, 229
24 Burke J W L, Mant C L, Black J A. J Chromatogr, 1989, 476, 377
25 Adachi T, Takayanagi H, Sharpe A D. J Chromatogr A, 1997, 763: 57
26 Fennikova B, Tennikova T B, Svec F. J Chromatogr, 1993; 646: 279
27 Tennikova T B, Belenkii B G, Svec F. J L Chromatogr, 1990, 13, 63
28 Hall D, Kinder H, Paschke A, et al. J Chrom Sci, 1998, 36
29 Petterson C, Schill G. J L Chromatogr, 1986, 9, 269
30 Kramell R, Schneider G, Miersch O. Chromatographia, 1997, 45, 104
31 Peter A, Toth G, Csernus G. J Chromatogr A, 1994, 660, 283
32 Loennechen T, Dahl S G. J Chromatogr, 1990, 503, 205
33 Peter A, Torok G, Mazaleyrat J. J Chromatogr A, 1997, 790, 41
34 Gabashko S V, Shpigun I P, Gerus I I. J Chromatogr A, 1992, 600, 43
35 Gabashko S V, Shushkina I P, Sokolsonok V A. J Chromatogr A, 1994, 661, 57
36 Aelof R, Lemm T. J Chromatogr A, 1998, 799, 289
37 Hu W, Takeuchi H. Chromatographia, 1998, 33 (1/2)
38 Li S, Purdy W C. J Chromatogr, 1991, 534, 105
39 Lesellier E, Tchapla A, Marty C. J Chromatogr, 1993, 633, 9
40 Hsu C L, Walters R R. J Chromatogr, 1991, 550, 621
41 Malik A. Chromatographia, 1991, 31(11/12)
42 Sander L C, Parris R M, Wise S A. Anal Chem, 1991, 63, 2589
43 Horikawa R, Sakamoto H, Tanimura T. J L Chromatogr, 1986, 9, 537
44 Peter A, Torok G, Armstrong D W. J Chromatogr A, 1998, 793: 283
45 Peter A, Toth G. Analytica Chimica Acta, 1997, 352: 335

46 康继韬，吴红泉，李宪基. 色谱，1993，11，57
47 J Chrom Sci，1998，36(8).
48 Shaw C J，Sanfilippo M P J，McNally J J. J Chromatogr，1995，681，170
49 Wise S A，Sander L C，May W E. J chromatogr，1993，642：329
50 张鹏，张艺兵，赵卫东等. 色谱，2000，18(1)，82
51 Lesellier E，Tchapla A. J Chromatogr，1991，557，59
52 Ito M，Goto T J. J L Chromatogr，1990，13，991
53 Chiu P L，Yang S Y. J L Chromatogr，1986，9(4)：701～710
54 雷晓玲等. 色谱，1999，17(5)：432
55 Zukowski J，Pawlowska M，Nagatkina M. J Chromatogr，1993，629：169
56 李桦，罗锦，胡先明. 色谱，1999，17(4)：403
57 Krause M，Galensa R. Chromatographia，1991，32(1/2)：
58 杨静升. 色谱，1992，10：22
59 Chen B H，Chen Y C. J Chromatogr A，1994，661，127
60 Lane J R，Webb L W，Acuff R V. J Chromatogr A，1997，787，111
61 Bomgren B，Allenmark S. J L Chromatogr，1986，9：667
62 Olsen L，Bronnum Hansen K，Helboe P. J Chromatogr，1993：636，237
63 叶雅玲，尹泽波. 色谱，1996，14：14
64 金国英，杨振江，金声. 色谱，1985，3，136
65 Green J M，Jones R，Harrison R D. J Chromatogr，1994，635，203
66 Walhagen A，Edholm L E. Chromatographia，1991，32(5/6)
67 Balmer K. J ChromatogrA，1994：269—273
68 邹晓春，云自厚. 色谱，1998，16，421
69 G P. RoZing，H Goetz. J Chromatogr，1989，476：3
70 Hamilton C. J Chrom Sci，1989，27，51
71 Nimura N，Itoh H，Kinoshita T. J Chromatogr，1991，585：207
72 Supelco Inc. J Chrom Sci，1988，26，650
73 Wiebers B V，Muller B，Simat T，Steinhart H. J Chromatogr A，1997，786，57
74 Werner A. Chromatographia，1991，31(7/8)
75 Rezchelova V，Nowotny L，Zima D. J Chromatogr，1991，588：147
76 Werner A，Macho R，Shimasaki H，et al. J Chromatogr，1991，553：205
77 Liebich H M，Stefano C Di，Wixforth A，et al. J Chromatogr A，1997，763：193
78 Chung G M，Pinn W T Jr. J L Chromatogr，1988，11，613
79 Ranca V，Ucci A，Auriola S. J Chromatogr A，1997，766，85
80 Itoh H，Kinoshita T，Nimura N. J Chromatogr A，1994，662，95
81 Nomura N，Yamaguchi K，Hara M. J L Chromatogr，1991，14，401
82 Mant C T，Zhou N E，Hodges R S. J Chromatogr，1989，476：363
83 E I DuPont de Nemours & Co. J Chrom Sci，1989，27，269
84 Engelhardt H，Kramer M，Waldhoff H. Chromatographia，1990，30：523
85 noriyuki nimura，h itoh，t kinoshita，j. chromatogr，1991，585，207～211
86 Cunha R A，Sebastiao A M，Ribeiro J A. Chromatographia，1989，28，610
87 Laub J D，Smith R G. J Chromatogr，1991，546：73
88 樊晓梅，姚景平，王立辉. 色谱，1997，15：455
89 张宏伟，顾晓晨. 分析测试学报，1998，17(3)：37
90 Charles A G，et al. J Chromatogr A，2000，878，35
91 严秀文，刘震，冯生祥. 色谱，2000，18(1)：49
92 周志强，丁兆文，牛建等. 色谱，1999，17(2)：185

93 刘启力，于兆文，蒋华祥等. 分析化学，2000，28(3)：307
94 Hassan Y, Aboul-enein, Bark S A, et al. J L Chromatogr, 1991, [illegible](19): 3475
95 赖芳琳，严建伟，魏介华. 分析化学，8000，28(2)：133
96 王世防，周良模，孟子晖等. 分析化学，1999，27(12)：1420

第十四章　超临界色谱和薄层色谱谱图

第一节　超临界色谱谱图

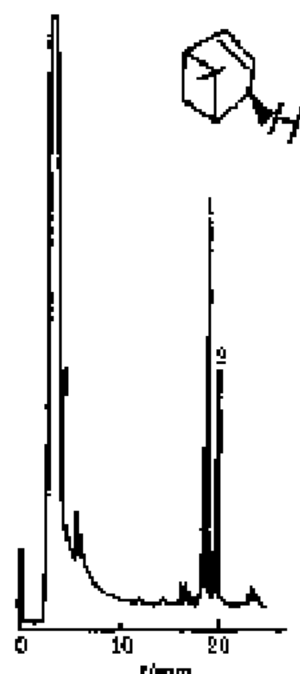


图 14-1　（±）反式马鞭草烯醇的SFC分离谱图[1]

色谱峰：1-(+)反式马鞭草烯醇；2-(−)反式马鞭草烯醇

色谱柱：10m×50μm（内径）；N-酰乙基苯聚硅氧烷CSP；液膜厚度为0.15μm

柱　温：60℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（300℃）

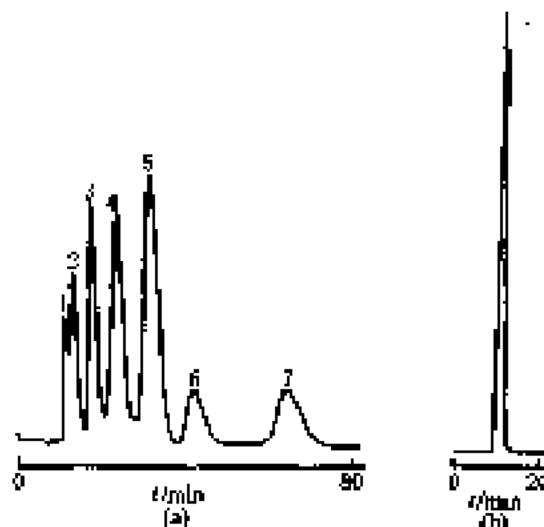


图 14-2　（D）柱上聚甲基苯SFC（a）和正相LC（b）分离色谱图[2]

色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—邻二甲苯；4—1,2,3-三甲苯；5—1,2,3,4-四甲基苯；6—五甲基苯；7—六甲基苯

色谱柱：(a) 250 mm×1 mm（内径）；(b) 250 mm×1 mm（内径）

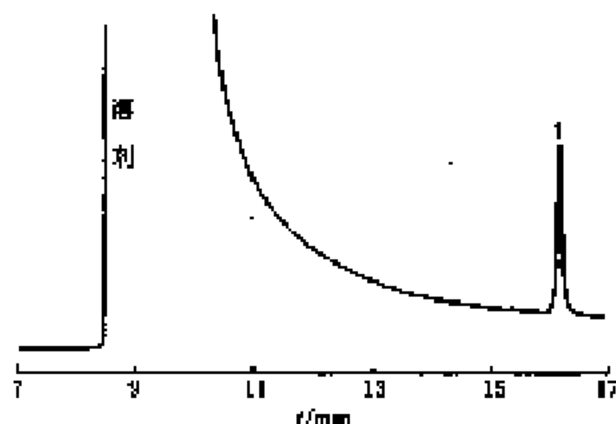
柱　温：(a) 室温；(b) 44℃

流动相：(a) CO_2压力，120 kg·cm^{-2}（1kgf·cm^{-2}=98.0665kPa）；

(b) 正己烷+甲醇（体积比=99:1）

流　速：(a) 出口气体流速为12 ml·min^{-1}；

(b) 15 μl·min^{-1}



色谱峰：1—肌醇三磷酸三甲基硅烷衍生化产物

色谱柱：10m×50μm（内径），DB-1，液膜厚度为0.2μm

柱　温：150℃

流动相：CO_2

柱　压：150 atm，10 atm·min^{-1}（1 atm=0.101325 MPa）

检测器：火焰离子化（300℃）

图 14-3　肌醇三磷酸的SFC分离谱图[3]

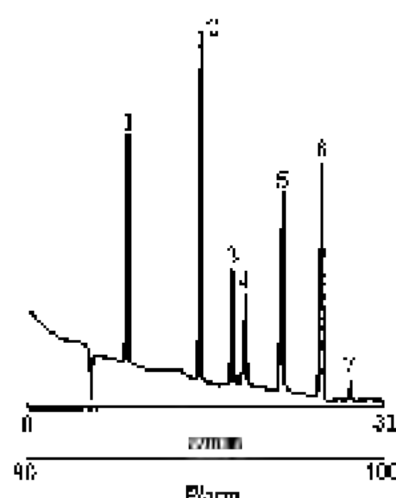


图 14-4　PAHs 的 SFC 分离谱图[4]

色谱峰：1—萘；2—芴；3—荧蒽；4—芘；5—䓛；6—二苯蒽；7—蔻

色谱柱：10 m×50 μm（内径），40%联苯取代聚甲基硅氧烷，膜厚 0.25 μm

流动相：CO_2

柱　压：90 $\xrightarrow{10\ atm \cdot min^{-1}}$ 400 atm（1 atm＝0.101325 MPa）

柱　温：100℃

检测器：柱上 UV 扫描检测

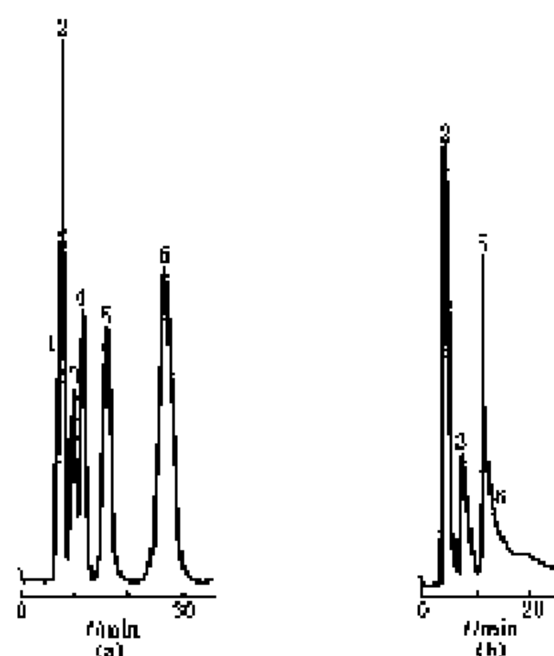


图 14-5　热敏性苯衍生物正相 LC（a）和 SFC（b）分离谱图[5]

色谱峰：1—甲苯；2—间苯酚；3—对硝基甲苯；4—硝基苯；5—对硝基苯甲酸；6—邻硝基苯甲酸

色谱柱：(a) 450 mm×0.63 mm（内径）；(b) 250 mm×1 mm（内径）

柱　温：(b) 44℃

流动相：(a) 正己烷—甲醇（体积比＝99∶1）；(b) CO_2 压力为 120 kg·cm^{-2}

流　速：(a) 15 μl·min^{-1}，(b) 12 ml·min^{-1}

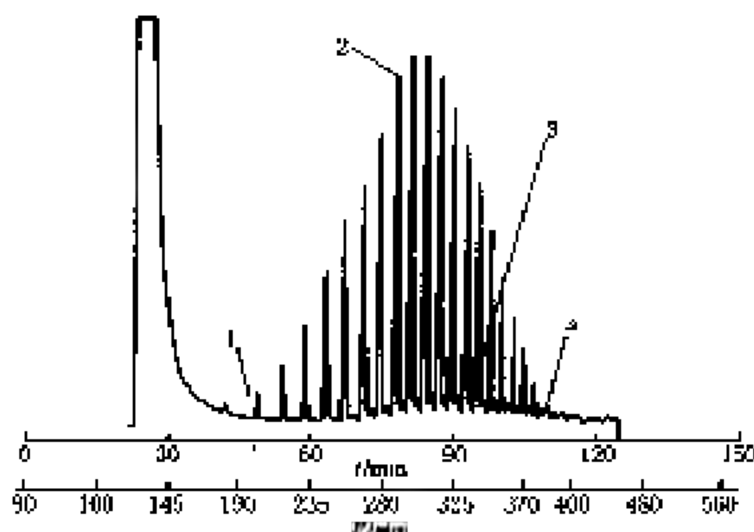


图 14-6　乙氧基烷基醇，三甲基硅烷衍生物的 SFC 分离谱图[5]

色谱峰：1—5 乙氧基化物单元；2—13 乙氧基化物单元；3—乙氧基化 1,2-或 1,3-丙基二醇；4—24-乙氧基化物单元

色谱柱：10 m×50 μm(内径)，柱相为 40%二苯基 70%甲基聚硅氧烷，液膜厚度为 0.15 μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(430℃)

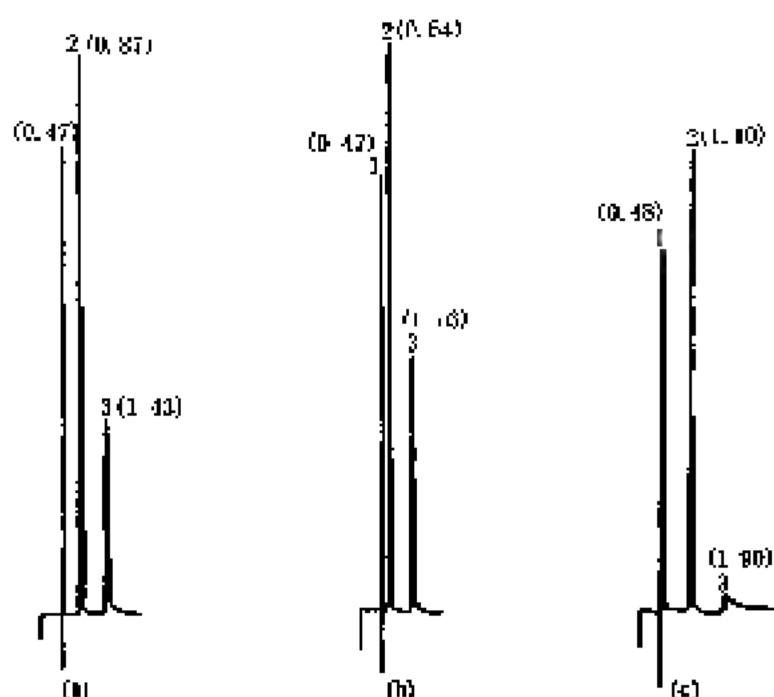


图 14-7　乙酰苯和苯酚的 SFC 分离谱图（一）[6]

色谱峰：1—注射溶剂，CH_2Cl_2；2—乙酰苯；3—苯酚

色谱柱：2 mm×150 mm，固定相为氰丙基键合的 SiO_2，5 μm 填料：(a) 30 nm，8 键；(b) 50 nm，8 键；(c) 12 nm，8 键

柱　温：75℃

流动相：100%CO_2，1.6×10^7 Pa，700 μl·min^{-1}（液体）

检测器：UV（254 nm）

注：图中括号内数值为流出时间，单位为 min。

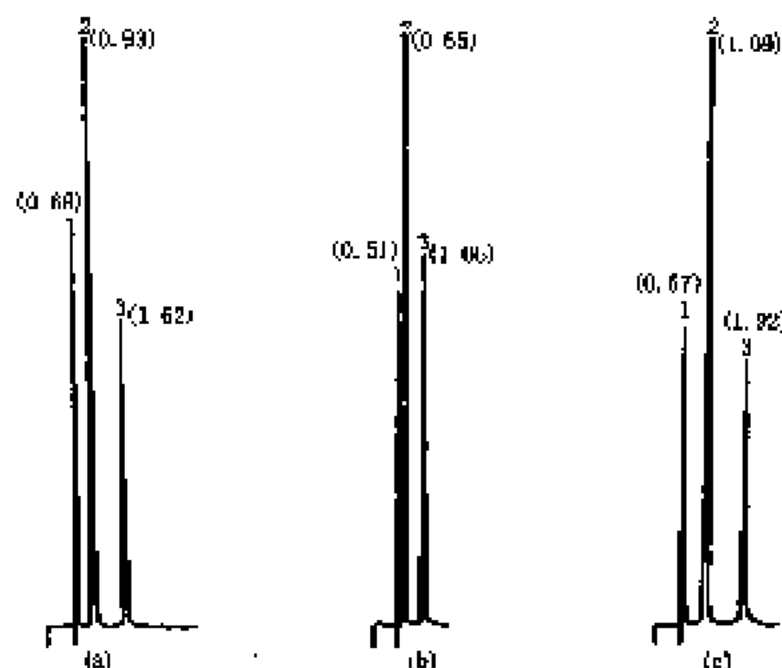


图 14-8　乙酰苯和苯酚的 SFC 分离谱图（二）[6]

色谱峰：1—注射溶剂，CH_2Cl_2；2—乙酰苯；3—苯酚

色谱柱：2 mm×150 mm，固定相为氰丙基键合的 SiO_2，5 μm 填料：(a) 30 nm，8 键；(b) 50 nm，8 键；(c) 12 nm，Hypersil

柱　温：75℃

流动相：CH_3OH+CO_2（体积比=2∶98），1.6×10^7 Pa，100 μl·min^{-1}（液体）

检测器：UV（254 nm）

注：图中括号内数值为流出时间，单位为 min。



图 14-9　乙苯和萘的柱上 SFC (a) 和 LC (b) 分离色谱图[2]

色谱峰：1—乙苯；2—萘

色谱柱：250 mm×1 mm（内径），填充C_{18}载体

柱　温：(a) 44℃；(b) 28℃

流动相：(a) CO_2 压力为 120 kg·cm^{-2}；

　　　　(b) 甲醇+水（体积比=65∶35）

流　速：(a) 出口气体流速为 12 ml·min^{-1}；

　　　　(b) 40 μl·min^{-1}

检测器　(b) UV(254 nm)

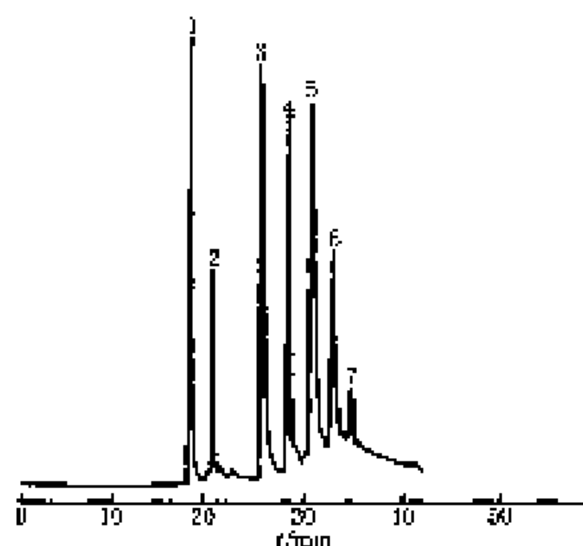


图 14-10　二、三-甘油酯的 SFC 分离谱图[7]

色谱峰：1—二月桂酸甘油酯；2—二肉豆蔻酸甘油酯；3—三肉豆蔻酸甘油酯和棕榈酸甘油酯；4—三棕榈酸甘油酯和三油酸甘酯；5—三甘油十八烷酸酯；6—三花生酸甘油酯；7—三-二十二烷酸酯

色谱柱：8 m×50 μm（内径），DB-1，液膜厚度为 0.25 μm

流动相：CO_2

检测器：电导（250℃）

压　力：起始为 100 atm 以后以 0.4 atm·min^{-1}变化（1 atm=0.101325 MPa）

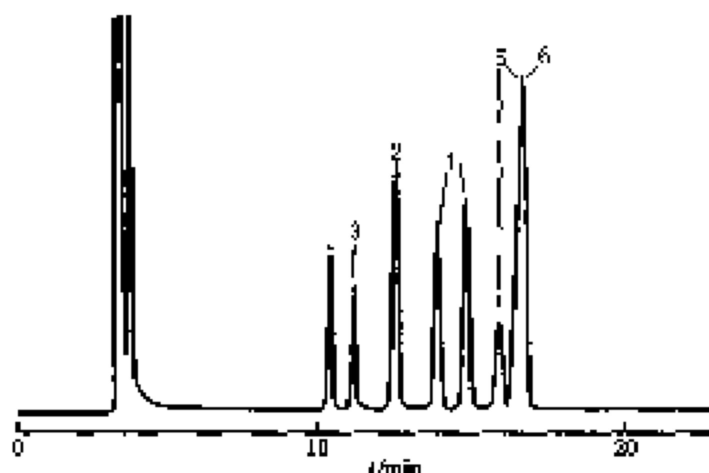


图 14-11　二异氰酸酯混合物的 SFC 分离谱图[6]

色谱峰：1—对苯基二异氰酸酯（PDI）；2—1,6 己基二异氰酸酯（HDI）；3—2,4-甲苯基氰酸酯（TDI）；4—2,4,4-三甲基己烷基 1,6-二异氰酸酯（TMDI）；5—异佛尔酮-1,6 二异氰酸酯（IPDI）；6—间位二甲苯基二异氰酸酯（XDI）

色谱柱：5 m×100 μm（内径），柱相为 50%苯基-50%甲基-聚硅氧烷，液膜厚度为 0.50 μm

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（350℃）

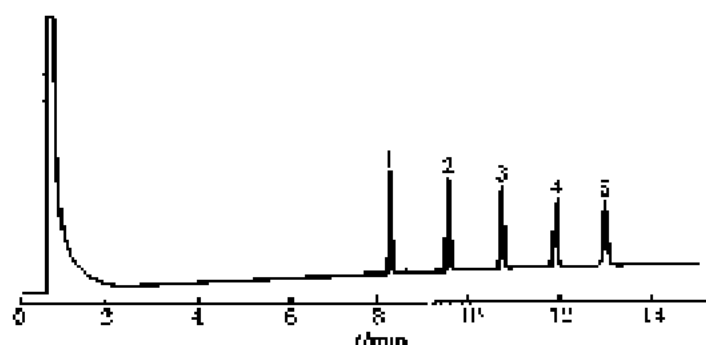


图 14-12　三甘油酯的 SFC 分离谱图[8]

色谱峰：1—甘油三月桂酸酯；2—三肉豆蔻精；3—三棕榈精；4—三硬脂精；5—三花生球蛋白

色谱柱：25 cm×1.0 mm（内径），填充硅胶，30 nm，7 μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2—0.3%甲酸+0.17%水

压　力：1.72×10⁷ Pa（2min）$\xrightarrow{10min}$ 3.79×10⁷ Pa

检测器：火焰离子化(350℃)

进样体积：0.5μl

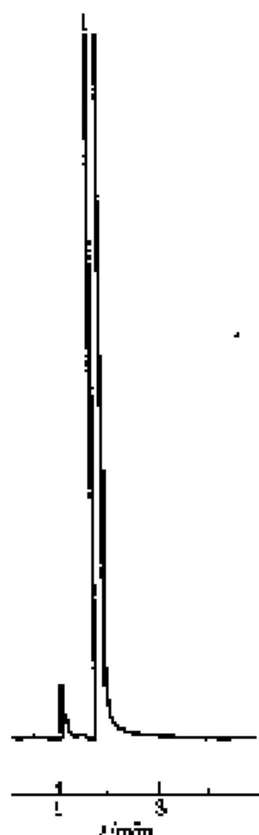


图 14-13　三甲氧苄二氨嘧啶的 SFC 分离谱图[12]

色谱峰：1—三甲氧苄二氨嘧啶

色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径)，β键TM的氰丙基（Keystone)，5 μm

流动相：CO_2(3 ml·min^{-1})+甲醇(500 μl·min^{-1})—0.1 mol·L^{-1}四丁基氢氧化铵

柱　温：60℃

检测器：UV(254 nm)

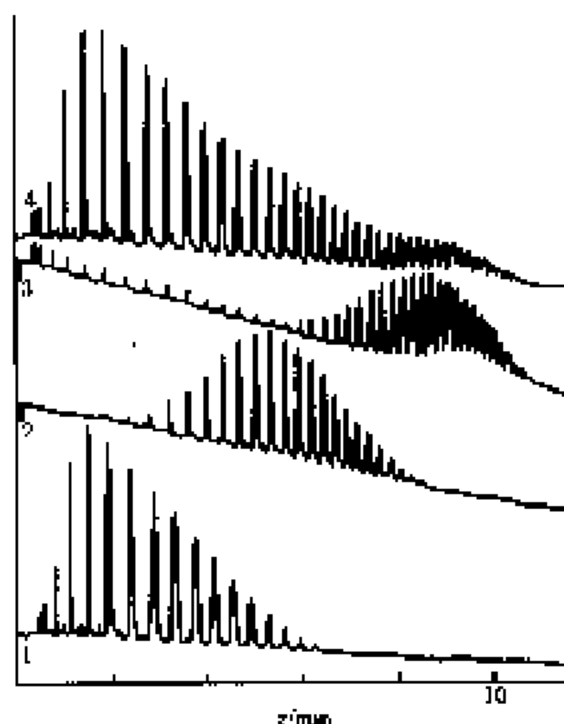


图 14-14　三硝基甲苯类化合物的 SFC 分离谱图[C]

色谱峰：1—三硝基甲苯 X-114；2—三硝基甲苯 X-165；3—三硝基甲苯 X-405；4—X-114、X-165 和 X-405 混合物

色谱柱：100 mm×2.0 mm（内径），十八烷基聚硅氧烷（Nucleosil），3 μm

柱　温：165℃

流动相：CO_2＋甲醇

检测器：UV(278 nm)

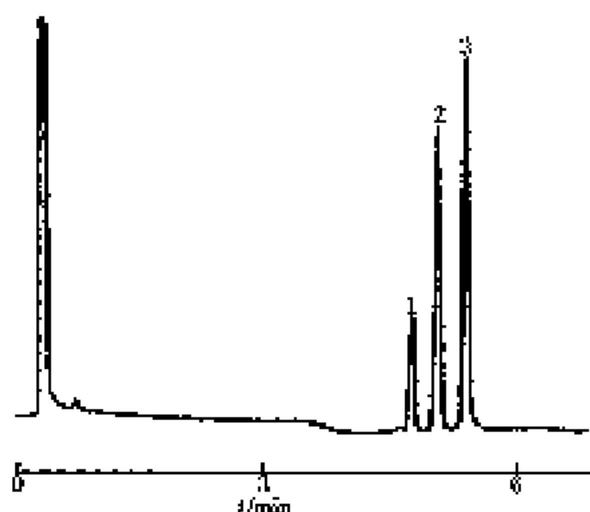


图 14-15　不饱和脂肪酸的 SFC 分离谱图[15]

色谱峰：1—三油精（18 : 1）；2—三亚油精（18 : 2）；3—三亚麻精（18 : 2）

色谱柱：2.0 mm×100 mm，氰丙基键合相硅胶，3 μm

柱　温：80℃

流动相：CO_2（含 1%异丙醇）

柱出口压：12.5 MPa $\xrightarrow{12\ \text{min}}$ 35.0 MPa

检测器：UV（205 nm）

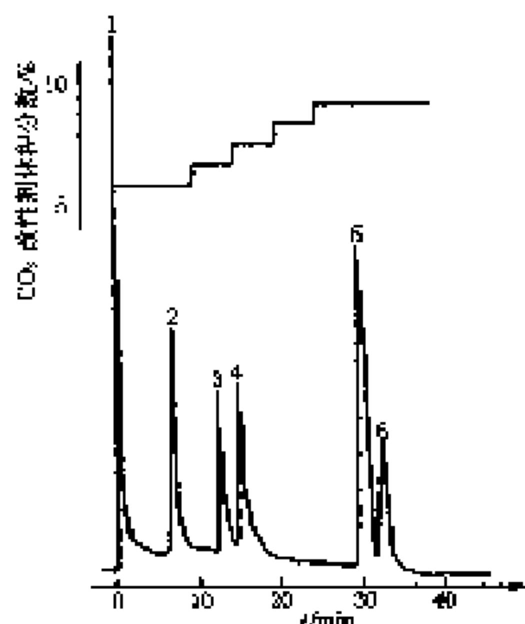


图 14-16　5 种 FMOC-氨基酸的 SFC 分离谱图[14]

色谱峰：1—丙酮；2—Val；3—Ala；4—Phe；5—Lys；6—Ser

色谱柱：15 cm×0.46 cm（内径），5 μm Nucleosil-100 硅胶

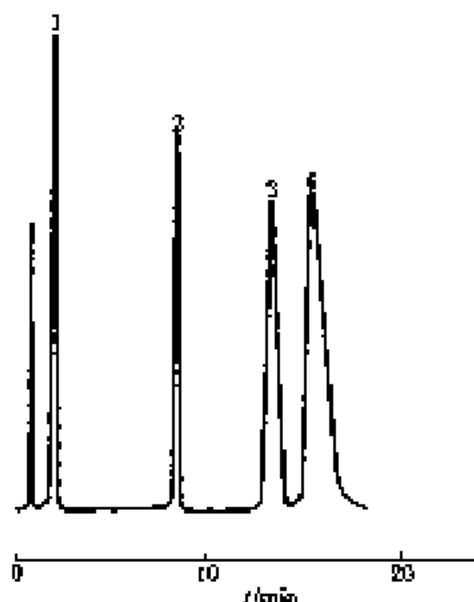
柱　温：42℃

流动相：以甲醇+水+甲基膦（体积比=98.99 : 1.00 : 0.01）改性的 CO_2

流　速：1 ml·min^{-1}

平均压力：2.7×10^{7} Pa

检测器：UV（265 nm）



色谱峰：1—鲸蜡醇十四烷酸酯；2—十八烷醇；3—十六烷酸和十八烷酸的甘油酯；4—十八烷酸

色谱柱：400 mm×1.5 mm，二醇键合硅胶 5μm

柱　温：45℃

流动相：CO_2

柱出口压力：18 MPa $\xrightarrow{20\ \text{min}}$ 28 MPa

检测器：蒸发光散射

图 14-17　天然蜡组分的 SFC 分离谱图[13]

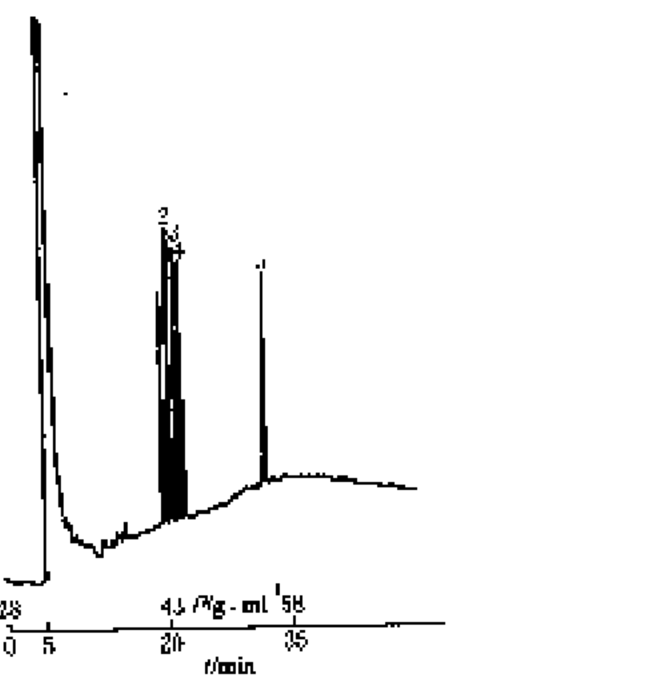
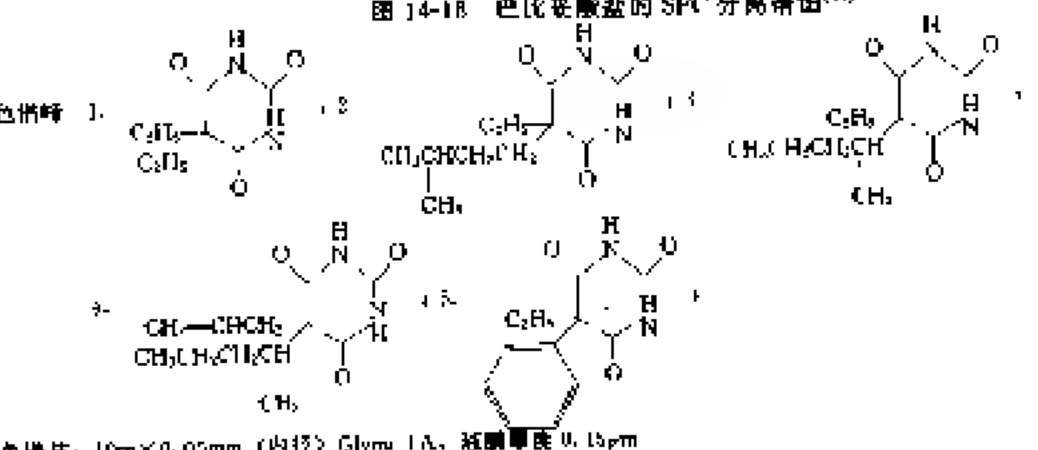


图 14-18 巴比妥酸盐的 SFC 分离谱图[11]



色谱峰 1～5（结构式见图）

色谱柱：10m×0.05mm（内径）Glyme 1A，液膜厚度 0.15μm
流动相：CO_2
检测器：火焰离子化（350℃）

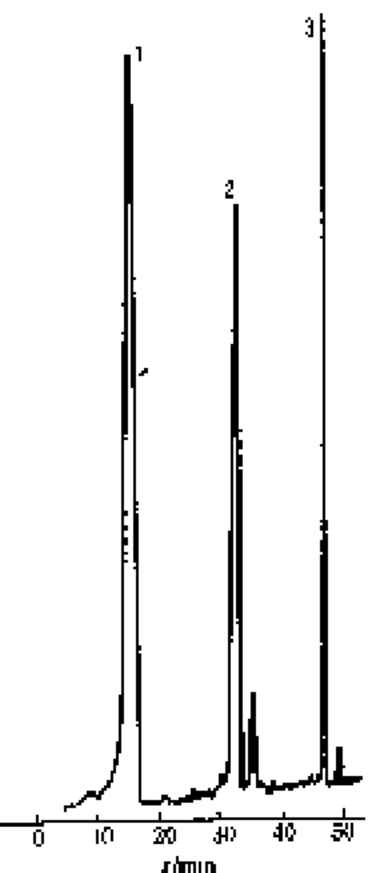


图 14-19 水溶性染料的 SFC 分离谱图[10]

色谱峰：1—分辛酸；2—孔雀石绿；3—高氯酸噁嗪

色谱柱：250 mm×1.0 mm（内径），SiO_2（Spheri. 5，5 μm）

流动相：丙烷－水＋双（2-乙基己基）磺化琥珀酸（50 mmol／L＋50 mmol）

柱 温：103℃

检测器：UV（620 nm）

压 力：37.5 MPa

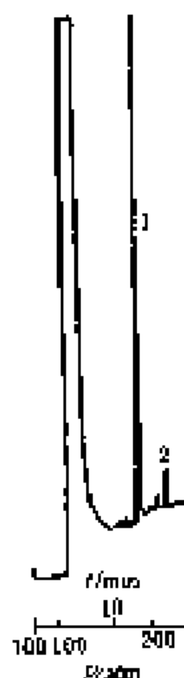


图 14-20　丙氧芬和降丙氧芬的SFC分离谱图

色谱峰：1—丙氧芬；2—降丙氧芬
色谱柱：2.5 m×50 μm（内径），固定相为50%二苯基聚硅氧烷，50%甲基聚硅氧烷，液膜厚度为0.25 μm
柱　温：100℃
流动相：CO_2
检测器：火焰离子化（375℃）

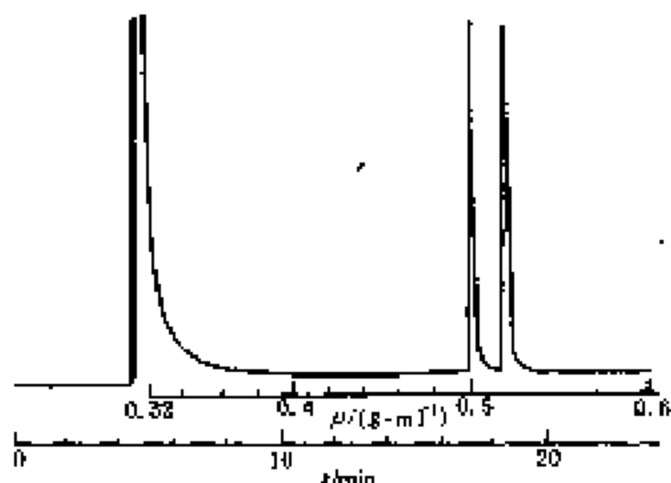


图 14-22　外消旋六巴比妥的SFC分离谱图

色谱柱：6.5 m×0.05 mm，涂有固定化 Chirasil-Dex 的熔化硅柱
柱　温：90℃
流动相：CO_2，0.32 $g \cdot ml^{-1}$ 5 min，以0.015 $g \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$ 增加
检测器：火焰电离（315℃）

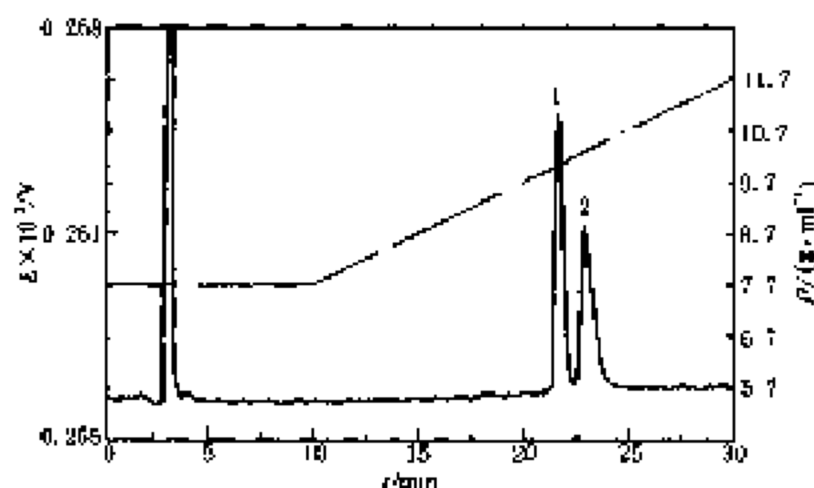


图 14-21　外消旋二乙基酒石酸的SFC分离谱图

色谱峰：1—D-(−)二乙基酒石酸；2—L-(−)二乙基酒石酸
色谱柱：2.0 m×0.05 mm 涂有固定化 chirasil-体的熔化硅胶
柱　温：120℃
流动相：0.01 $g \cdot ml^{-1}$ 5 min，然后以0.16 $g \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$ 增加
检测器：火焰电离检测器（315℃）

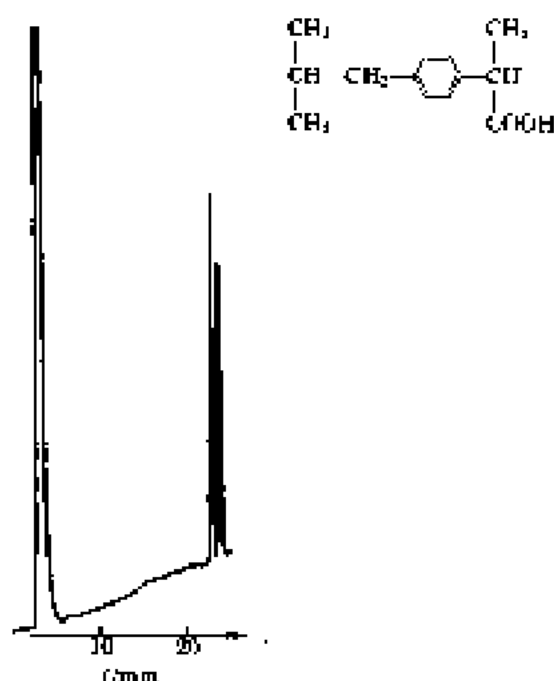


图 14-23 对映体的 SFC 分离谱图（一）[30]

色谱柱：2.5 m×0.05 mm 涂有固定化 Chirasil-Dex 非失活的熔化硅胶

柱 温：60℃

流动相：CO_2，0.25 g·min⁻¹ 2min，然后以 0.0036 g·ml⁻¹·min⁻¹增加

检测器：火焰电离(315℃)

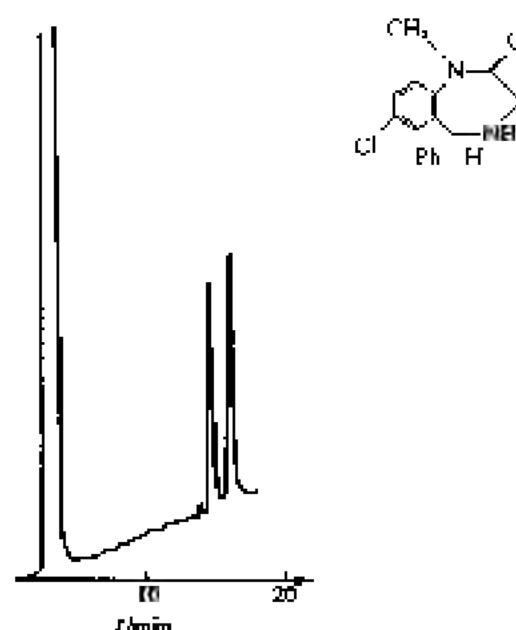


图 14-24 对映体的 SFC 分离谱图（二）[30]

色谱柱：2.5 m×0.05 mm 涂有固定化 Chirasil-Dex 非失活的熔化硅胶

柱 温：90℃

流动相：CO_2 0.31g·min⁻¹ 2min，0.0029g·ml⁻¹·min⁻¹增加

检测器：火焰电离(315℃)

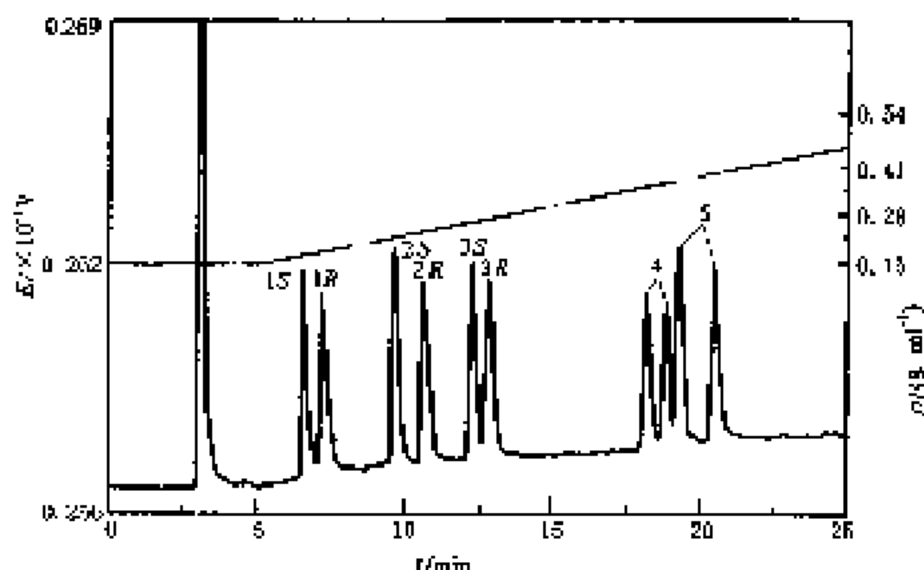
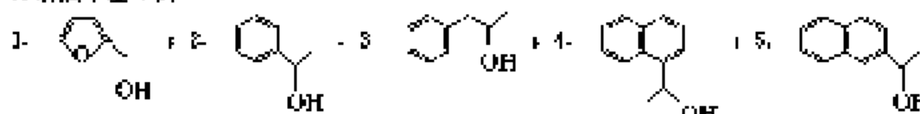


图 14-25 对映体的 SFC 分离谱图（三）[31]

色谱峰：外消旋甲基甲醇



色谱柱：7.0 m×0.05 mm，键有固定化 Chirasil-Dex 的熔化硅胶

柱 温：120℃

流动相：CO_2，0.01 g·ml⁻¹ 5 min，0.16 g·ml⁻¹·min⁻¹增加

检测器：火焰电离(315℃)

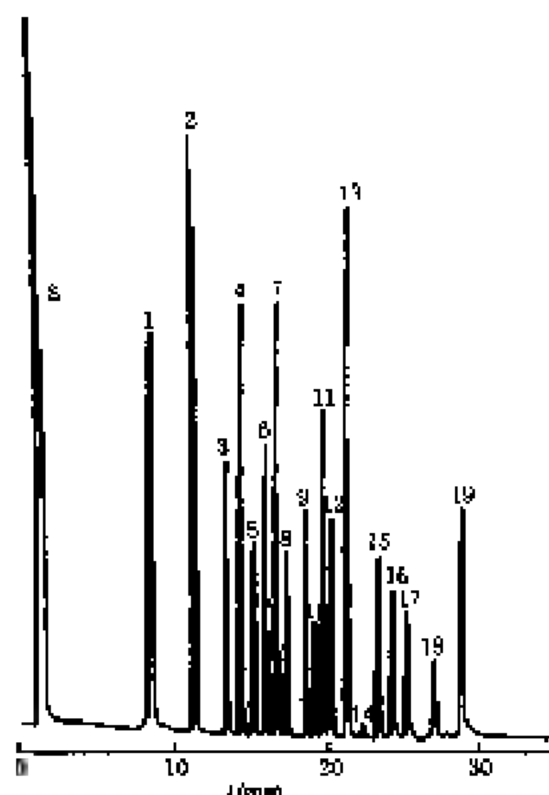


图 14-26 正构烷烃 (C_{12}～C_{44}) 的 SFC 分离谱图 (一)[26]

色谱峰：S—氯仿溶剂；1—正十二烷烃；2—正十四烷烃；3—正十六烷烃；4—正十七烷烃；5—正十八烷烃；6—正十九烷烃；7—正二十烷烃；8—正二十一烷烃；9—正二十三烷烃；10—正二十四烷烃；11—正二十五烷烃；12—正二十六烷烃；13—正二十八烷烃；14—正三十烷烃；15—正三十二烷烃；16—正三十四烷烃；17—正三十六烷烃；18—正四十烷烃；19—正四十四烷烃

色谱柱：100 mm×1.0 mm(内径)，填充5 μm十八烷基键合硅胶

柱 温：150℃ 流动相：CO_2

压 力：9.12×10^6 Pa $\xrightarrow{5\ min}$ 9.12×10^6 Pa $\xrightarrow[线性梯度]{40\ min}$ 3.55×10^7 Pa

检测器：FID(385℃)

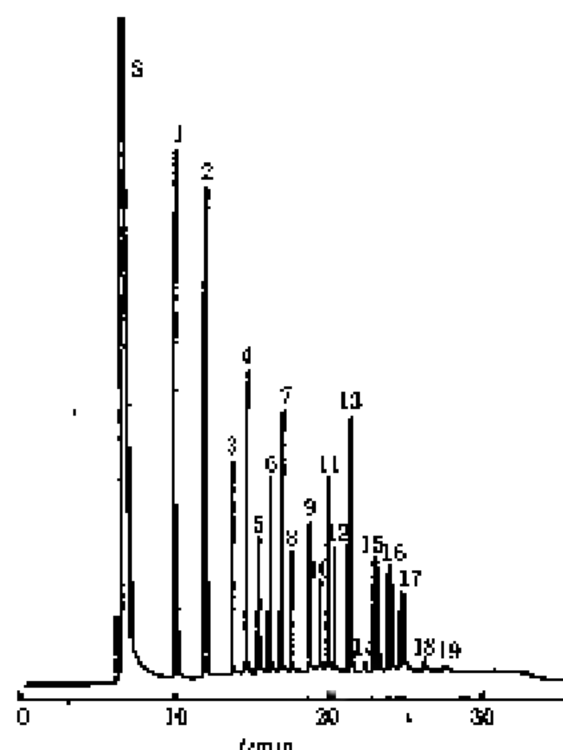


图 14-27 正构烷烃(C_{12}～C_{44}) 的 SFC 分离谱图 (二)[27]

色谱峰：S—氯仿溶剂；1—正十二烷烃；2—正十四烷烃；3—正十六烷烃；4—正十七烷烃；5—正十八烷烃；6—正十九烷烃；7—正二十烷烃；8—正二十一烷烃；9—正二十三烷烃；10—正二十四烷烃；11—正二十五烷烃；12—正二十六烷烃；13—正二十八烷烃；14—正三十烷烃；15—正三十二烷烃；16—正三十四烷烃；17—正三十六烷烃；18—正四十烷烃；19—正四十四烷烃

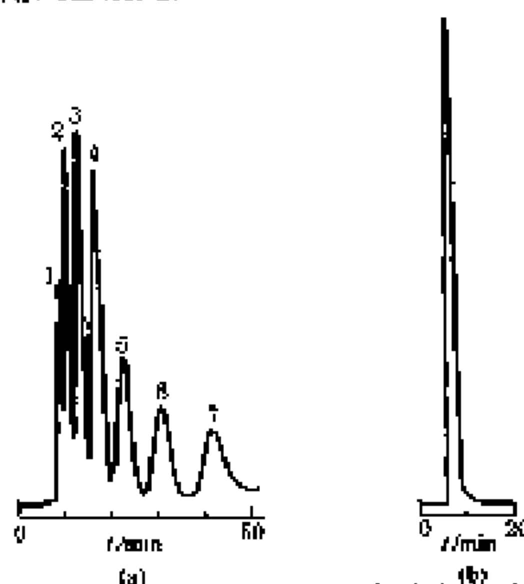
色谱柱：10 m×50 μm(内径)，毛细管柱，填充5%苯基甲基硅酮

柱 温：100℃

流动相：CO_2

压 力：9.12×10^6 Pa $\xrightarrow{5\ min}$ 9.12×10^6 Pa $\xrightarrow{25\ min}$ 3.55×10^7 Pa

检测器：FID (380℃)



色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—乙苯；4—正丙苯；5—正丁苯；6—正戊基苯；7—正己基苯

色谱柱：(a) 250 mm×1 mm(内径)；(b) 250 mm×1 mm (内径)

流动相：(a) CO_2压力为180 $kg\cdot cm^{-2}$；(b) 正己烷+甲醇 (体积比=99:1)

流 速：(a) 出口气体流速为12 $ml\cdot min^{-1}$；(b) 15 $\mu l\cdot min^{-1}$

图 14-28 正烷基苯同系物 SFC (a) 和正相 LC (b) 分离谱图[28]

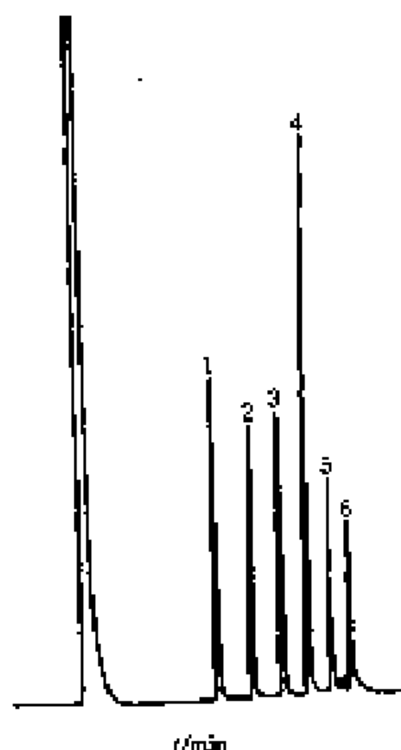


图 14-29 正烷基羧酸的SFC分离谱图[39]

色谱峰：1—辛酸；2—癸酸；3—月桂酸；4—十四烷酸；5—棕榈酸；6—十八烷酸

色谱柱：15 m×50 μm(内径)，聚二甲基聚硅氧烷

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化

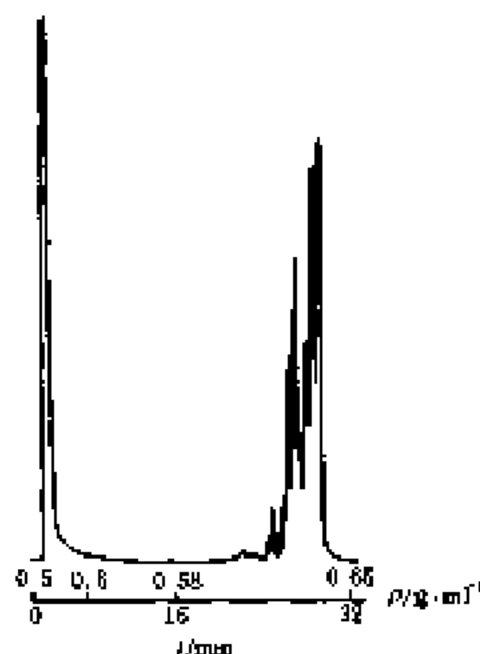


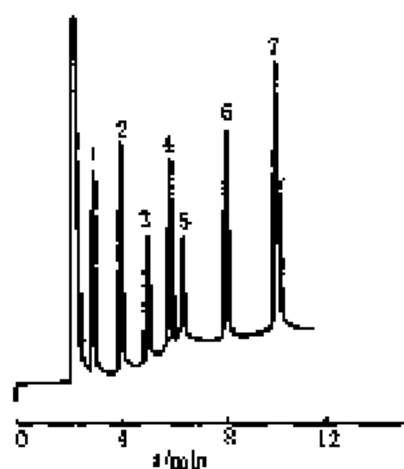
图 14-30 玉米油的SFC分离谱图[38]

色谱柱：400 mm×0.25 mm(内径)，柱相为氰丙基键合硅胶，5μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(385℃)



色谱峰：1—1-单辛酸甘油酯；2—单肉豆蔻酸甘油酯；3—单二十碳烯酸甘油酯；4—1,3-二肉豆蔻酸甘油酯；5—1,2-二棕榈酸甘油酯；6—三甘油十七烷酸酯；7—三硬脂酸甘油酯

色谱柱：DB-1

柱　温：110℃

流动相：CO_2

压　力：13.8 MPa $\xrightarrow{10\ \text{min}}$ 34.47 MPa

检测器：FID

图 14-31 甘油酯的SFC分离谱图[39]



图 14-32　生物碱的 SFC 分离谱图[?]

色谱峰：1—罂粟碱；2—二甲基吗啡；3—可待因；4—吗啡

色谱柱：4.6 mm×150 mm，二醇键合硅胶 5 μm

柱　温：40℃

流动相：20%改良 CO_2

柱出口压：20 MPa

检测器：UV(280 nm)

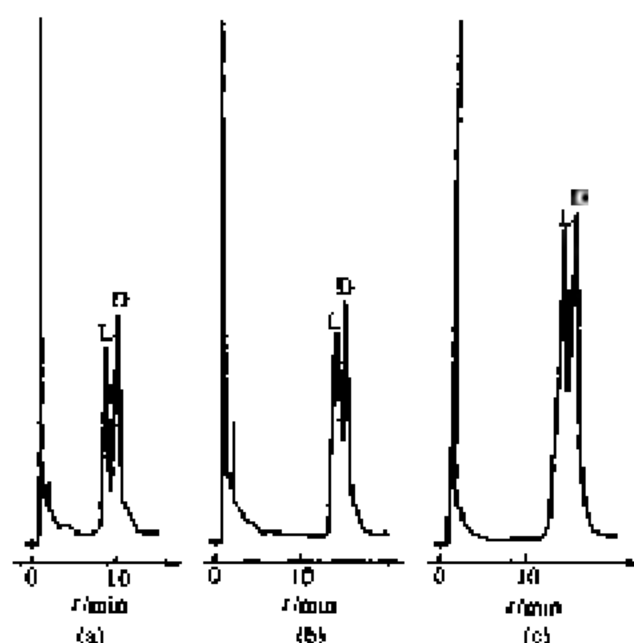


图 14-33　用 FLEC 分离氨基酸对映体的 SFC 谱图[?]

色谱峰：(a) DL-Val；(b) DL-Ala；(c) DL-Met

色谱柱：16 cm×0.46 cm（内径），5 μm Nucleosil-100 裸露硅胶

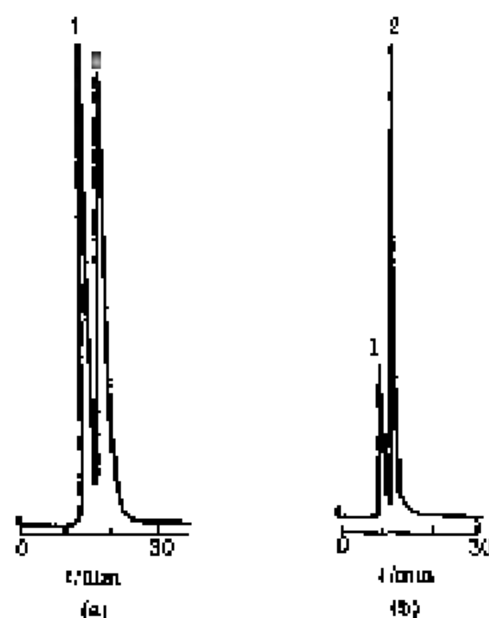
柱　温：42℃

流动相：(a) 以4.5%甲醇＋水＋甲基胺（体积比＝98.99：1.00：0.01）改性的 CO_2；
(b) 以5.3%甲醇＋水＋甲基胺（体积比＝98.99：1.00：0.01）改性的 CO_2；
(c) 以5.9%甲醇＋水＋甲基胺（体积比＝98.99：1.00：0.01）改性的 CO_2

流　速：4 ml·min^{-1}

平均压力：27MPa

检测器：UV(269 nm)



色谱峰：1—2-甲基萘；2—联二苯

色谱柱：350 mm×1 mm(内径)

柱　温：(a) 28℃；(b) 44℃

流动相：(a) 甲醇-水（体积比＝65：35）；(b) CO_2，压力为 120 kg·cm^{-2}；

流　速：(a) 30 μl·min^{-1}，　(b) 出口气体流速为 12 ml·min^{-1}

检测器：UV(254 nm)

图 14-34　2-甲基萘和联二苯的 CD 柱反相 LC (a) 和 SFC (b) 分离谱图[?]

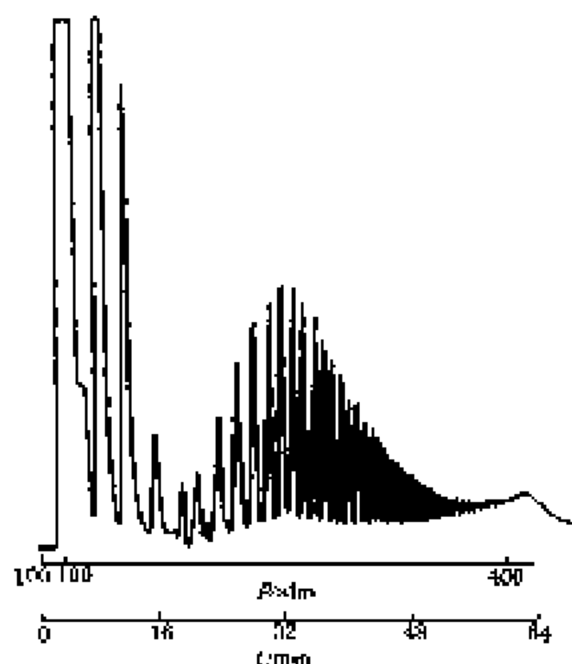


图 14-35　甲基聚硅氧烷（平均相对分子质量 600~700）的 SFC 分离谱图[49]

色谱柱：10 cm×1.0 mm(内径)，填充 5μm Spherisorb 十八烷基硅胶

柱　温：150℃

流动相：0.3%甲醇+CO_2

压　力：100 atm $\xrightarrow{2\ min}$ 100 atm $\xrightarrow{5.9\ atm \cdot min^{-1}}$ 400 atm

(1 atm=0.101325 MPa)

进样体积：1 μl

检测器：FID(350℃)

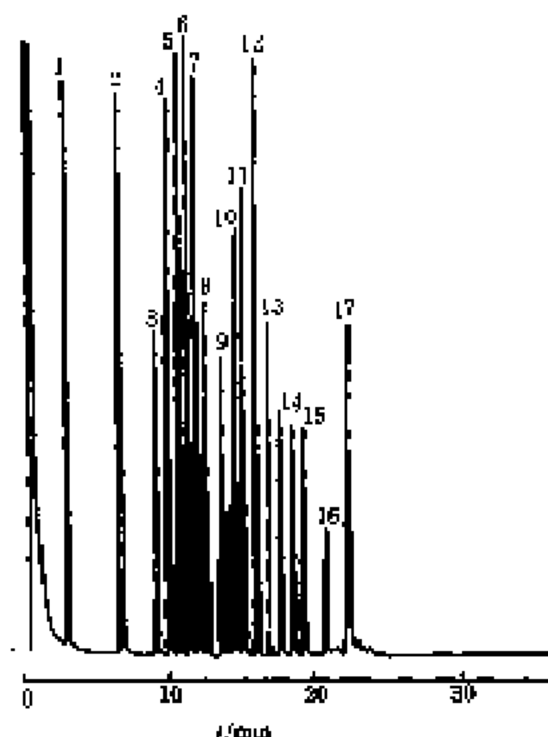


图 14-36　石蜡的 SFC 分离谱图[52]

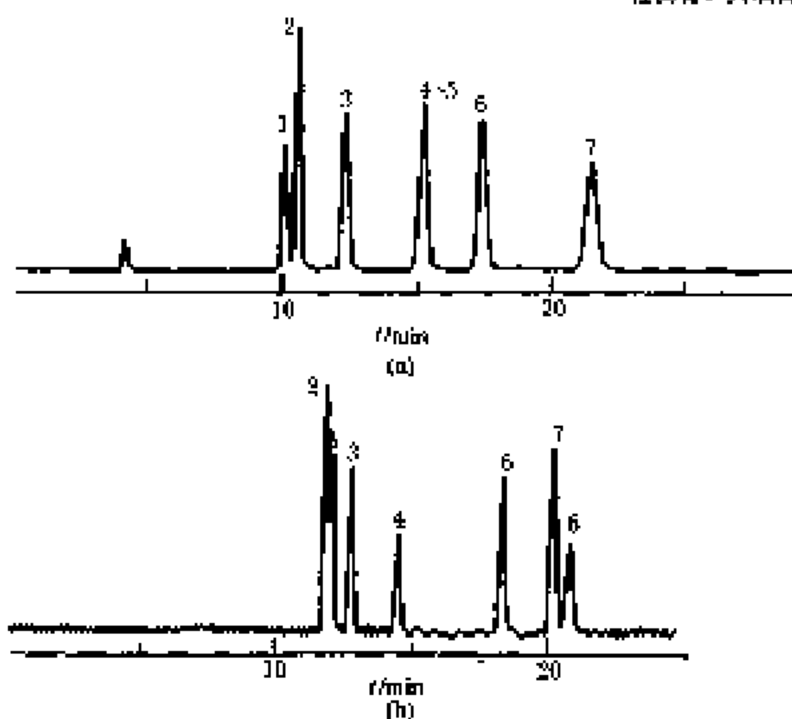
色谱峰：1—C[illegible]；2—C[illegible]；3—C[illegible]；4—C[illegible]；5—C[illegible]；6—C[illegible]；7—C[illegible]；8—C[illegible]；9—C[illegible]；10—C[illegible]；11—C[illegible]；12—C[illegible]；13—C[illegible]；14—C[illegible]；15—C[illegible]；16—C[illegible]；17—C_{44}

色谱柱：10 cm×1.0 mm(内径)，中性铝，5 μm

柱　温：100℃　　流动相：CO_2

压　力：100 atm 保持 7 min，然后以 10 atm·min⁻¹增加到 360 atm(1 atm=0.101325 MPa)，最后保持此压力不变

检测器：火焰离子化(385℃)



色谱峰：1—亚硝基二甲胺；2—亚硝基二乙胺；3—亚硝基二丙胺；4—亚硝基二丁胺；5—亚硝基哌啶；6—亚硝基吡咯烷；7—亚硝基吗啉

色谱柱：(a) CPTm Spher-18，250 mm×1.35 mm(内径)

(b) DB-WAX-20M，10 m×0.1 mm(内径)，液膜厚度为 0.2 μm

柱　温：(a) 40℃，(b) 40℃

流动相：(a) CO_2+0.9%甲醇；(b) CO_2

检测器：化学发光

图 14-37　亚硝胺混合物的 SFC 分离谱图[37]

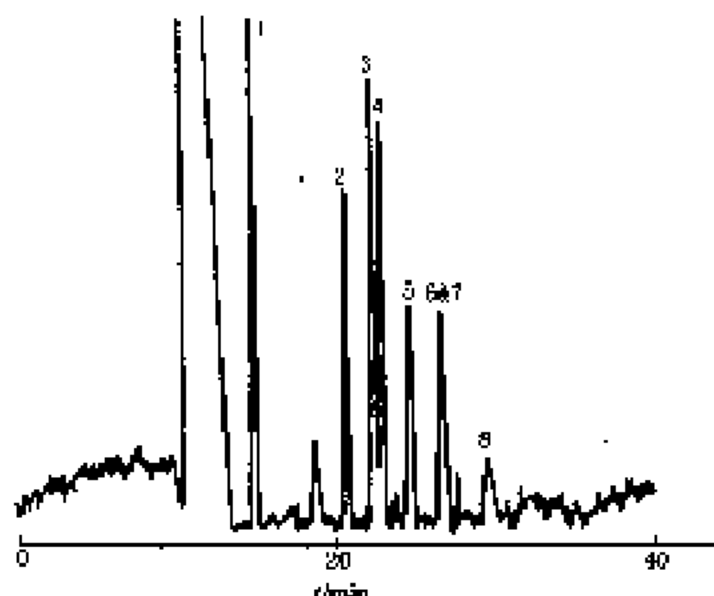


图 14-38　多环芳烃的 SFC 分离谱图[36]

色谱峰：1—萘；2—芴；3—菲；4—荧蒽；5—芘；6—9,10-二苯基蒽；7—苗北；8—晕

色谱柱：10 m×100 μm(内径)，50%苯基 50%甲基聚硅氧烷 SB-苯基-50 (Dionex)，液膜厚度为 0.5 μm

柱　温：100℃

流动相：氙

压　力：8.96×10^6 Pa，10 min，然后(8.96×10^6～2.76×10^7)Pa，30 min

检测器：Fourier 转换远红外

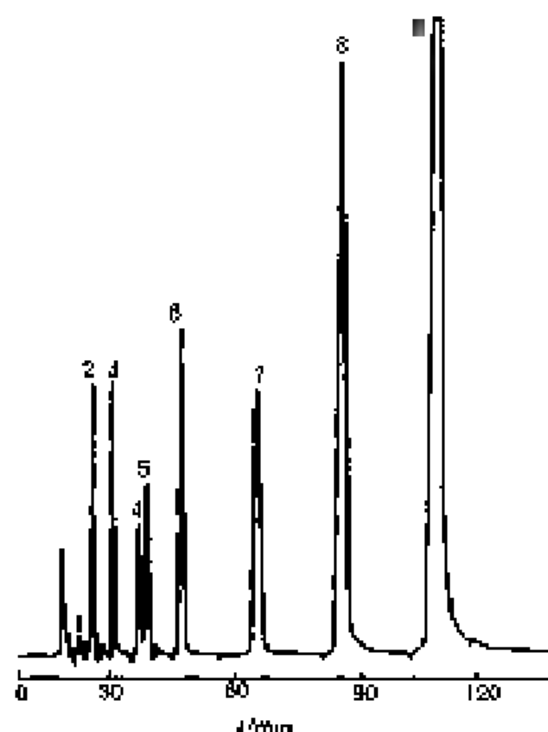


图 14-39　多环芳香烃的 SFC 分离谱图[37]

色谱峰：1—萘；2—芴；3—菲；4—蒽；5—荧蒽；6—芘；7—苯并 [a] 芘；8—苯并 [ghi] 苝；9—晕苯

色谱柱：100 mm×2 mm(内径)，5 μm diol Silica

柱　温：70℃

流动相：1.5%丙烯基碳酸盐+98.5%CO_2

检测器：UV(254 nm)

压　力：100 atm，然后以 10 atm·min^{-1}速度增加

(1 atm=0.101325 MPa)

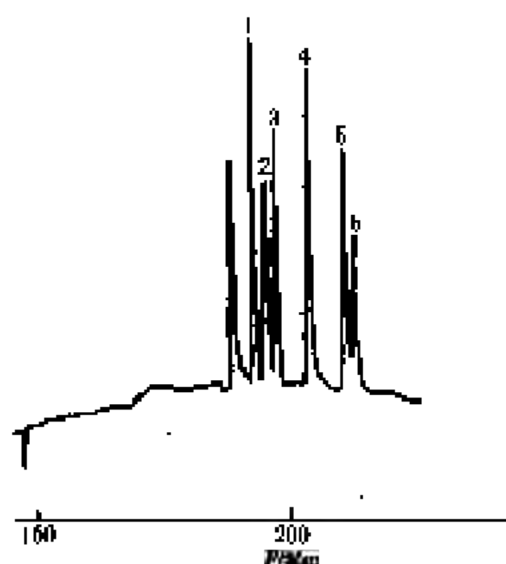


图 14-40　多环芳香烃的 SFC 分离谱图[38]

色谱峰：1—萘；2—二甲基萘；3—芴；4—菲；5—荧蒽；6—芘

色谱柱：20 m×50 μm(内径)，柱相为 DB-1 聚甲基硅氧烷液膜厚度为 0.4 μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：电导(350℃)

压　力：起初为 100 atm，然后以 10 atm·min^{-1}变化

(1 atm=0.101325 MPa)

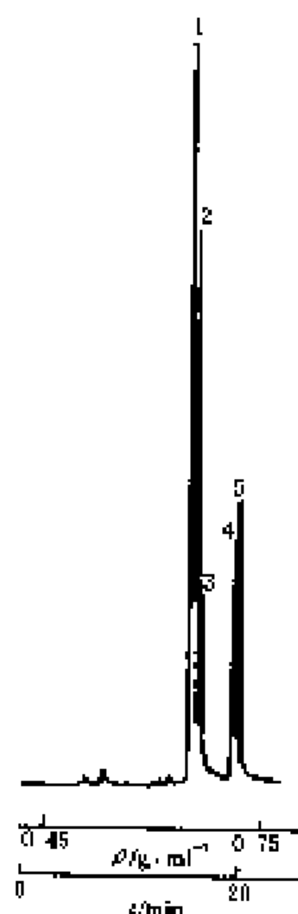
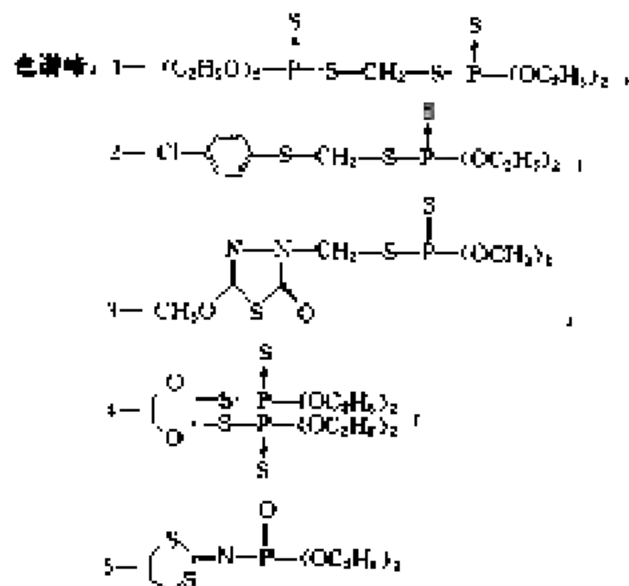


图 14-41 杀虫剂的SFC分离谱图（一）[48]



色谱柱：200 mm×0.25 mm(内径)，氰丙基5键

柱　温：50℃

流动相：CO_2＋2%甲醇

检测器：硫化学发光

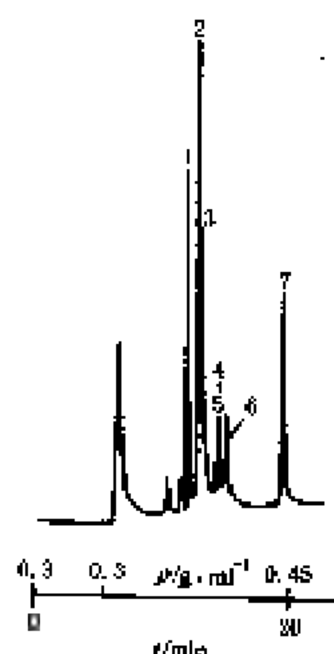
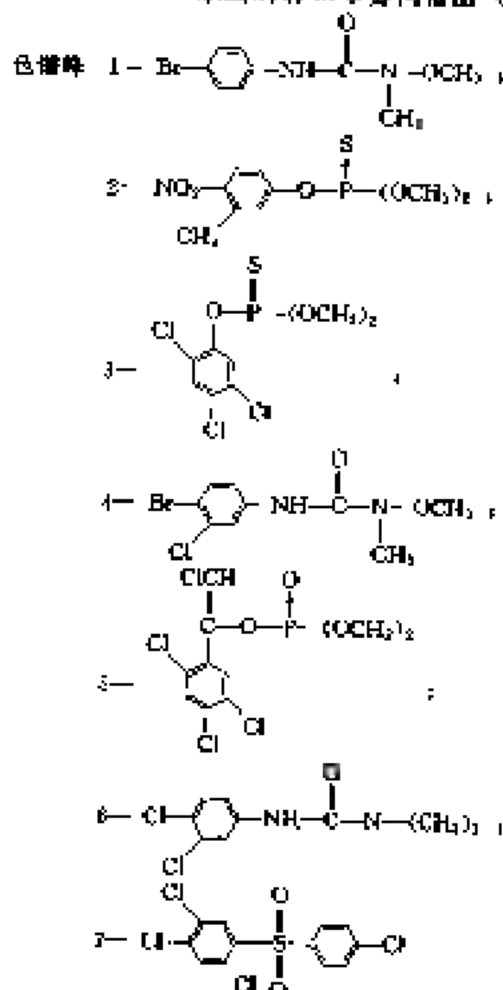


图 14-42 杀虫剂的SFC分离谱图（二）[49]



色谱柱：4 m×0.05 mm(内径)，熔化硅胶SB-Phenyl 5

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：电子捕获

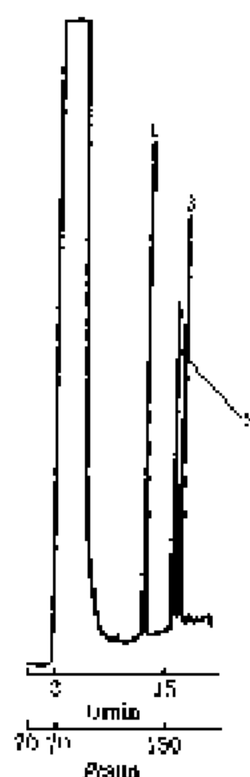
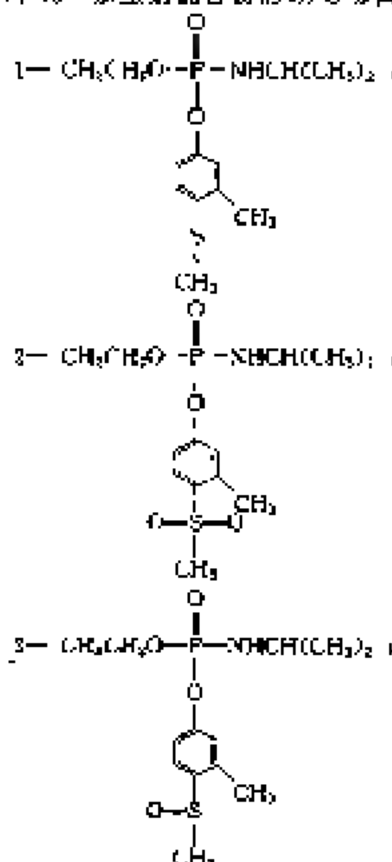


图 14-43 杀虫剂混合物的SFC分离谱图[31]

色谱峰：1— $CH_3CH_2O-P(=O)(-NHCH(CH_3)_2)-O-C_6H_3(CH_3)(SCH_3)$；



色谱柱：6 m×50 μm(内径)，液膜厚度 0.20 μm，柱相为近晶状液体晶体
柱　温：80℃
流动相：CO_2
检测器：火焰离子化(350℃)

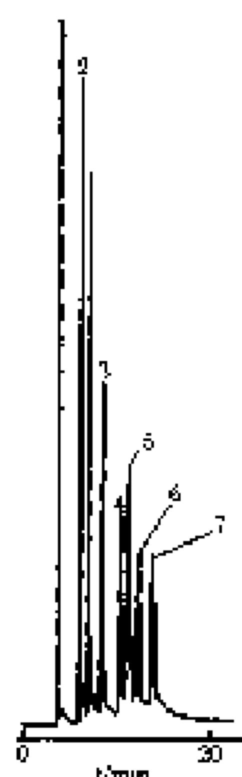


图 14-44 自由脂肪酸的SFC分离谱图（一）[40]
色谱峰：1—[illegible]；2—C_{14}；3—C_{16}；4—$C_{18:0}$；5—$C_{18:1}$；6—$C_{18:2}$；7—$C_{18:3}$
色谱柱：10 m×50 μm(内径)，柱相为25%氰丙基，75%甲基聚硅氧烷，液膜厚度为0.25 μm
柱　温：150℃
流动相：CO_2，(等压) 1 atm＝0.101325 MPa)
检测器：火焰离子化(400℃)

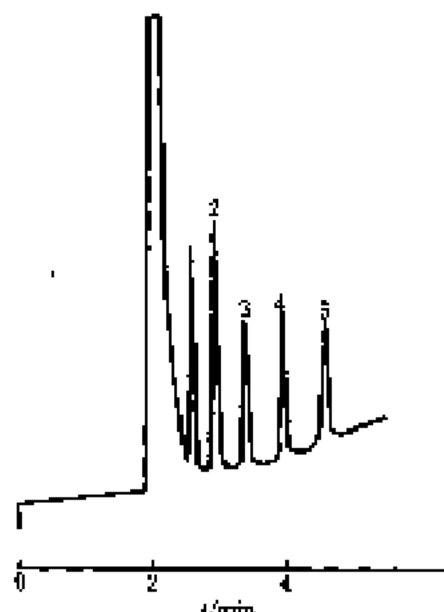


图 14-45 自由脂肪酸的SFC分离谱图（二）[33]
色谱峰：1—芥酸；2—月桂酸；3—十四烷酸；4—十八烷酸；5—花生酸
色谱柱：10 m×50 μm(内径)，填充DB-1甲基聚硅氧烷
柱　温：180℃
流动相：CO_2
入口压力变化：2000 Pa $\xrightarrow[\text{线性梯度}]{10\ \text{min}}$ 4000 Pa
检测器：火焰离子化　　进样体积：0.1 μl

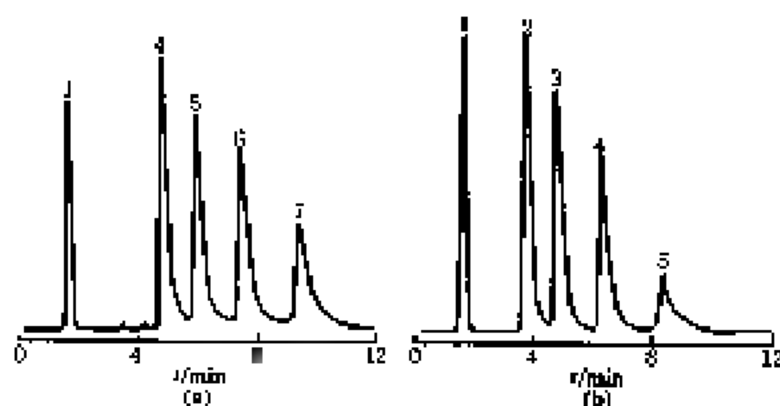


图 14-46　自由脂肪酸的 SFC 分离谱图（三）[illegible]

色谱峰：1—溶剂（异辛烷）；2—辛酸；3—癸酸；4—月桂酸；5—十四烷酸；6—棕榈酸；7—十八烷酸

色谱柱：15 cm×4.6 mm（内径），PRP-1（Hamilton）5 μm

柱　温：50℃

流动相：CO_2

进口压力：(a) 31.0 MPa；(b) 2.92 MPa

检测器：FTIR [(1850～1650) cm^{-1}]

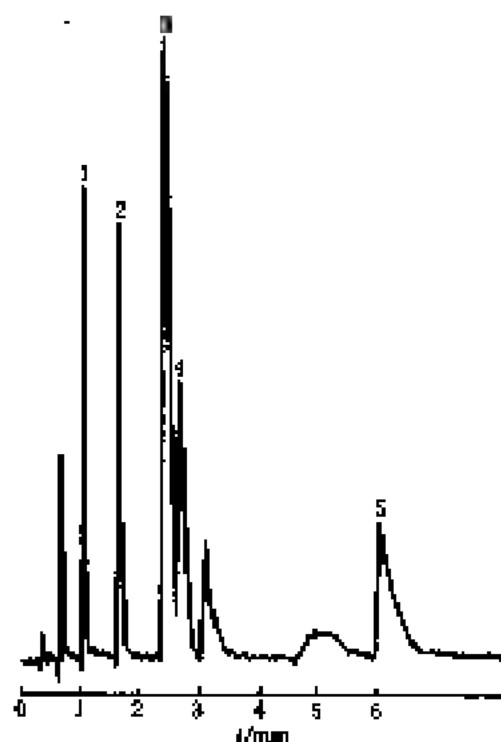


图 14-47　吩噻嗪衍生物的 SFC 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—FP-516；2—多塞平；3—吩噻嗪；4—氧化吩噻嗪；5—甲氧哒嗪

色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径），丁基硅胶 C-4（Vydac）

柱　温：50℃

流动相：氟利昂-23（3 ml·min^{-1}）+0.25 mol·L^{-1}四正丁基氢氧化铵+甲醇

检测器：UV（230 nm，430 nm）



图 14-48　安定类药物的 SFC 分离谱图[91]

色谱峰：1—去甲羟基安定；2—Librium；3—硝基安定

色谱柱：3 m×50 μm（内径），柱壁为聚乙基氧化取代聚硅氧烷，液膜厚度为 0.15 μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（350℃）

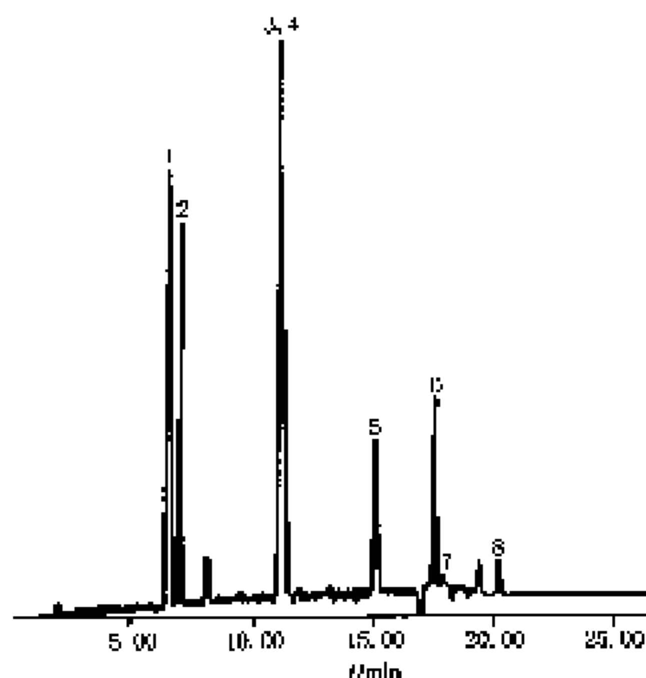
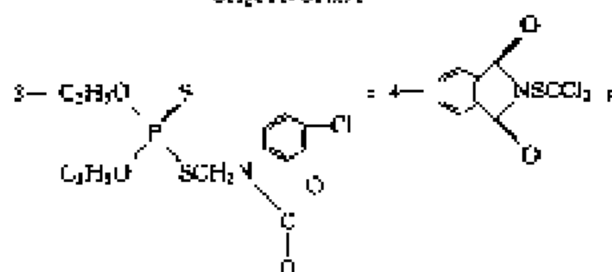
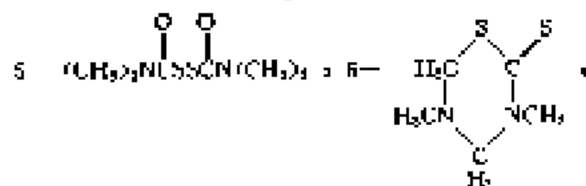
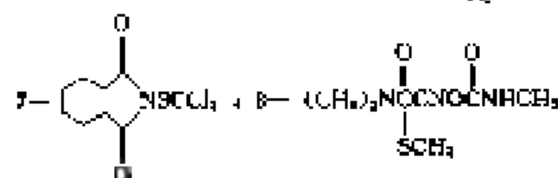


图 14-49　含硫杀虫剂的 SFC 分离谱图[illegible]

色谱峰：1— $CH_3CH_2SCN(O)[CH_2CH(CH_3)_2]_2$；2— $CH_3(CH_2)_2SCN(O)(C_3H_7)_2$；







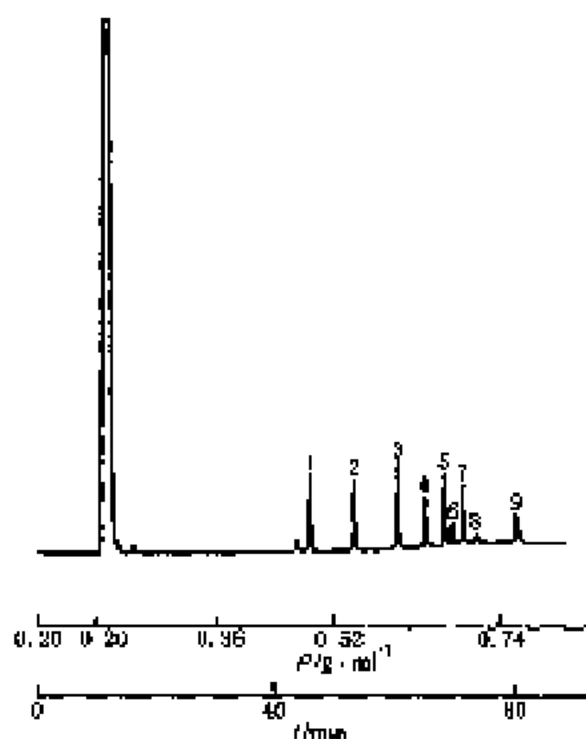
色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径)，Adsorbosphere 硅胶，5μm

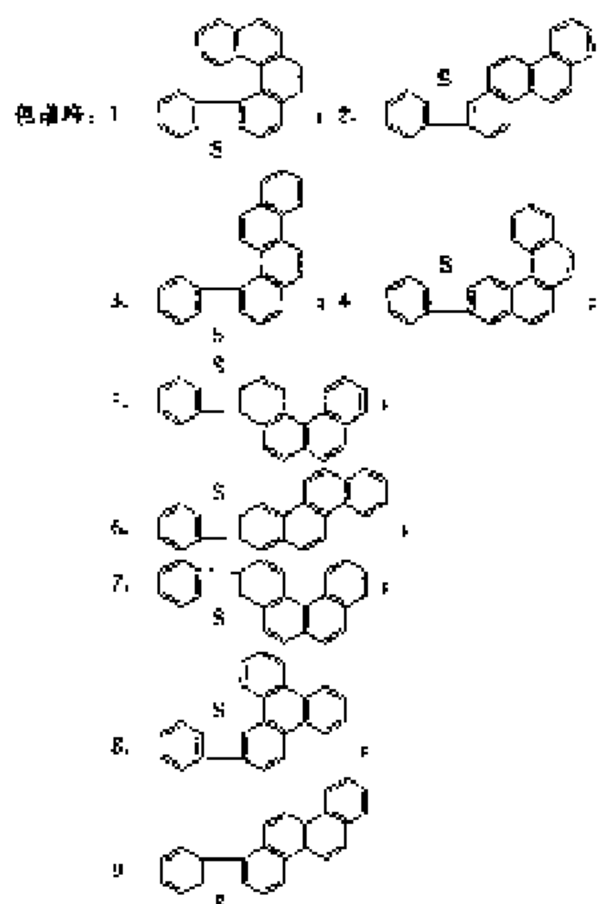
流动相：CO_2＋甲醇，甲醇浓度（体积分数）为 0.2% $\xrightarrow{0.2\%/min}$ 1.0% $\xrightarrow{1.0\%/min}$ 8.0% $\xrightarrow{15\%/min}$ 15%

柱出口压力：7.5 MPa $\xrightarrow{0.3\ MPa \cdot min^{-1}}$ 11.5 MPa $\xrightarrow{3.5\ MPa \cdot min^{-1}}$ 30 MPa

柱　温：40℃

检测器：UV(228nm)





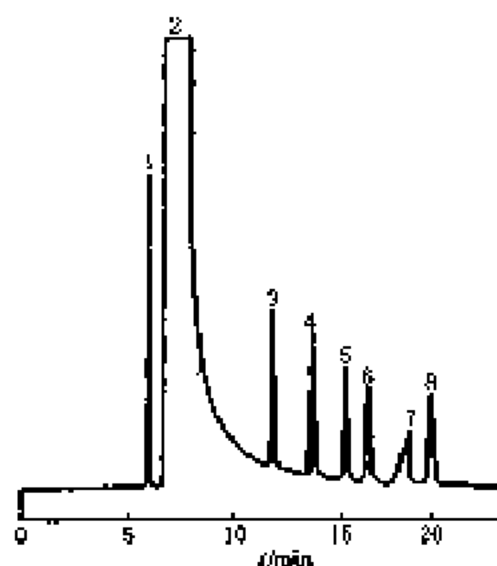
色谱柱：10 m×50 μm(内径)，50%晶体状聚硅氧烷

柱　温：120°C

流动相：CO_2；

检测器：火焰离子化（375°C）

图 14-50　含硫多元环芳烃的 SFC 分离谱图[24]



色谱峰：1—甲烷；2—二氯甲烷；3—莰烯；4—正辛醇；5—2,6-二甲基苯酚；6—1,6-己二醇；7—正辛胺；8—正十二烷

色谱柱：10 m×0.05 mm(内径) 填充 SB-甲基-100 甲基聚硅氧烷

柱　温：90°C

流动相：CO_2

检测器：FID(350°C)

图 14-51　极性差别较大化合物的 SFC 分离谱图[14]

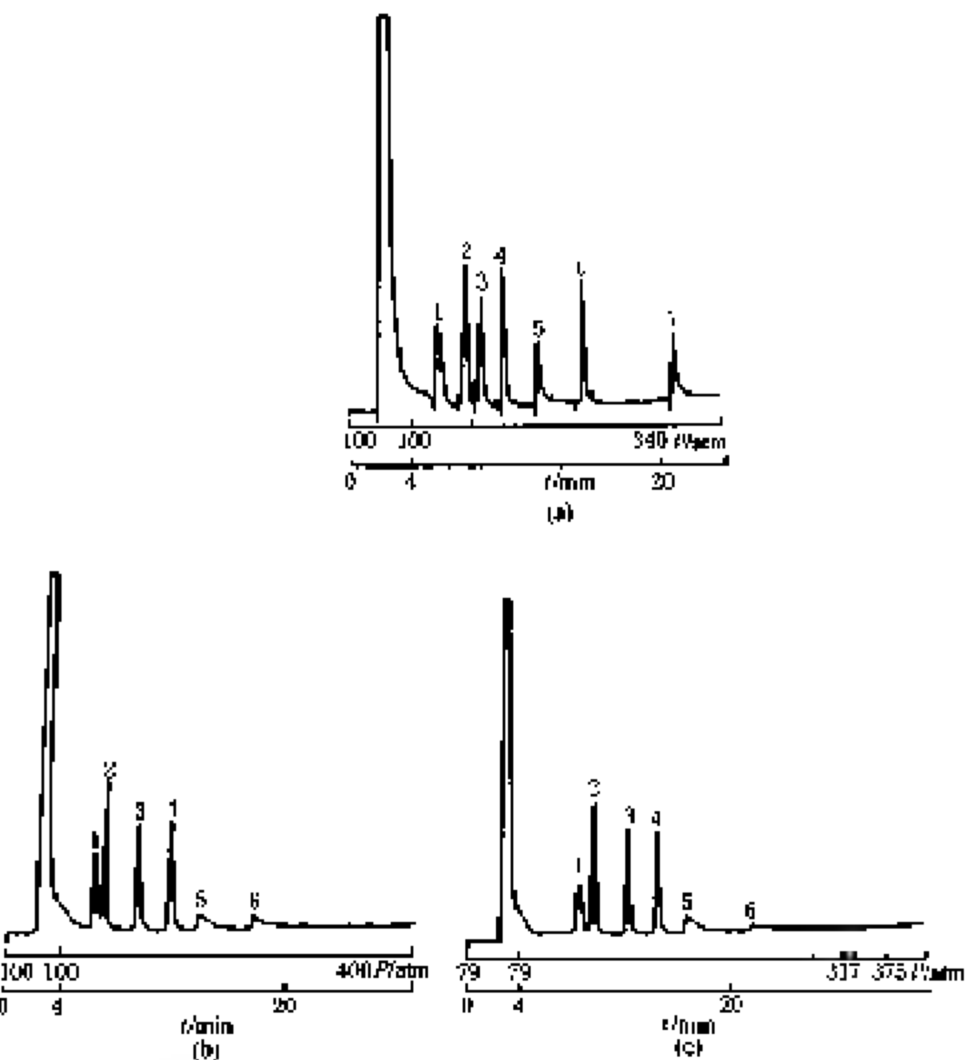


图 14-52 极性混合物的SFC分离谱图[illegible]

色谱峰：1—苯甲醚；2—正十五烷；3—苯甲醇；4—苯酚；5—苯甲酸；6—咖啡因；7—对硝基苯酚（只用 CO_2 洗脱）

色谱柱：30 cm×120 μm 氰丙基键合硅胶，5 μm（多孔）

柱 温：100℃ 流动相：(a) CO_2，(b)、(c) Xe

压 力：(a)、(b) 10 atm $\xrightarrow{4\ min}$ 10 atm $\xrightarrow{12\ atm \cdot min^{-1}}$ 400 atm (c) 79 atm $\xrightarrow{4\ min}$ 79 atm $\xrightarrow{32\ atm \cdot min^{-1}}$ 317 atm（1 atm = 0.101325 MPa）

检测器：FTIR

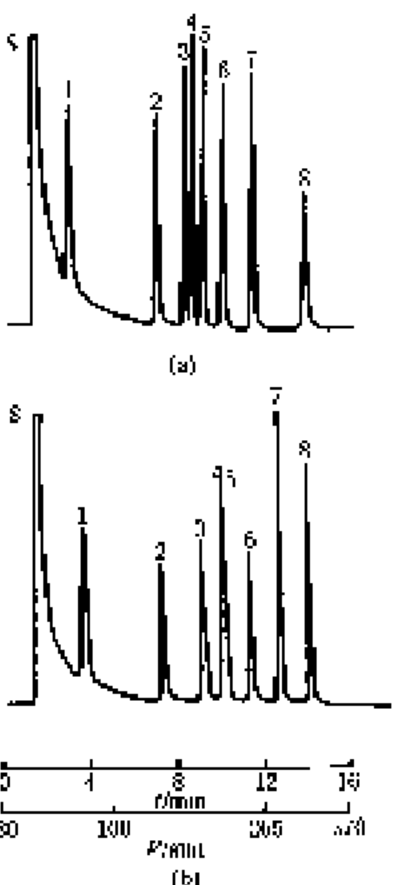


图 14-53 芳香烃类化合物的SFC分离谱图（一）[35]

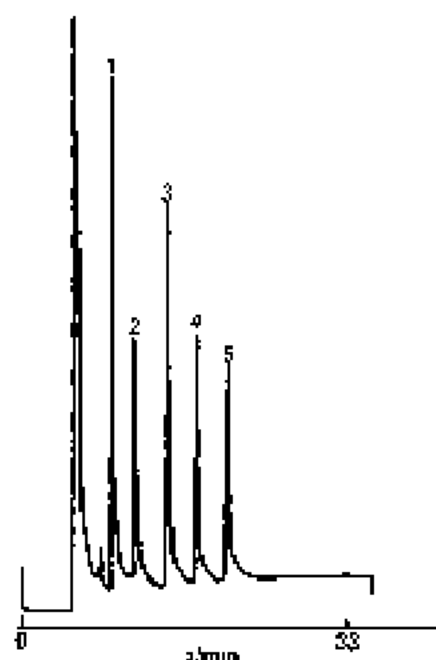
色谱峰：1—间二甲苯；2—萘；3—2,3-二甲基萘；4—联苯；5—芴；6—菲；7—芘；8—苯并蒽

色谱柱：10 cm×1.0 mm（内径），(a) 硅胶；(b) Hypersil 苯基柱

柱 温：60℃

流动相：CO_2

注：1 atm = 0.101325 MPa



色谱峰：1—芘；2—䓛；3—苯并[a]芘；4—二苯并[a，h]蒽；5—蔻

色谱柱：5 m×50 μm(内径)，2%乙烯基+98%甲基聚硅氧烷(SE-33)，液膜厚度为0.25 μm

柱　温：120°C

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(300°C)

图 14-54　芳香烃类化合物的 SFC 分离谱图（二）







图 14-55　抗生素的 SFC 分离谱图

色谱峰：1—左旋（四）咪唑；2—呋喃唑酮；3—氯霉素；4—制霉菌素

色谱柱：100 mm×4.6 mm(内径)，填充5 μm氨基键合Spherisorb

柱　温：75°C

流动相：CO_2+15%甲醇

流　速：4 ml·min^{-1}

柱　压：35.2 MPa

检测器：(a) UV (215 nm)，A=0.1(3.5 min)然后变为A=0.01；(b) UV(230 nm)，A=0.1

图 14-56　甾醇类化合物的 SFC（压缩柱）分离谱图

色谱峰：1—黄体酮；2—睾丸激素；3—17-羟基黄体酮；4—11-脱氧皮质醇；5—皮质酮

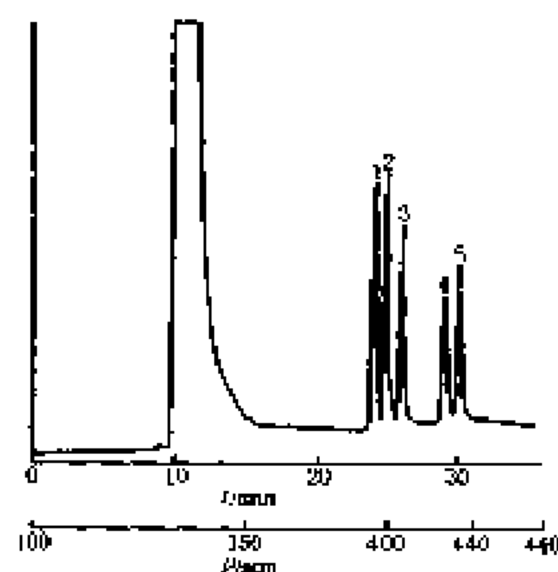
色谱柱：100 mm×1.0 mm(内径)，δ-氰丙基硅胶，5 μm

柱　温：60°C

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(375°C)

注：1 atm=0.101325 MPa



色谱峰：1—黄体酮；2—睾丸激素；3—17-羟基黄体酮；4—11-脱氧皮质醇；5—皮质酮

色谱柱：10 m×100 μm(内径)，SB-氰丙基；液膜厚度为 0.25 μm

柱　温：60℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（375℃）

　注：1 atm=0.101325 MPa

图 14-57　甾醇类化合物的 SFC（毛细管柱）分离谱图[46]

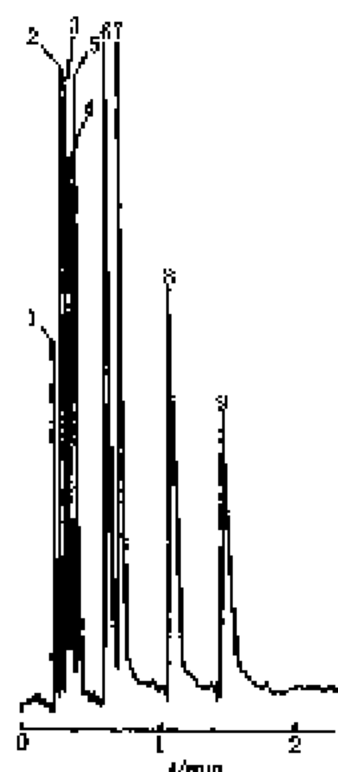


图 14-58　甾醇类化合物的 SFC 分离谱图（一）[48]

色谱峰：1—孕甾酮；2—甲基睾丸酮素；3—睾丸酮素；4—17-α-羟基孕甾酮；5—雌酮；6—雌二醇；7—可的松；8—氢化可的松；9—雌三醇

色谱柱：75 mm×4.6 mm(内径)，氰丙基硅胶(supelco)，3 μm

柱　温：40℃

流动相：5 ml·min^{-1} CO_2 1.525 ml·min^{-1}甲醇

检测器：UV(210 nm，430 nm)

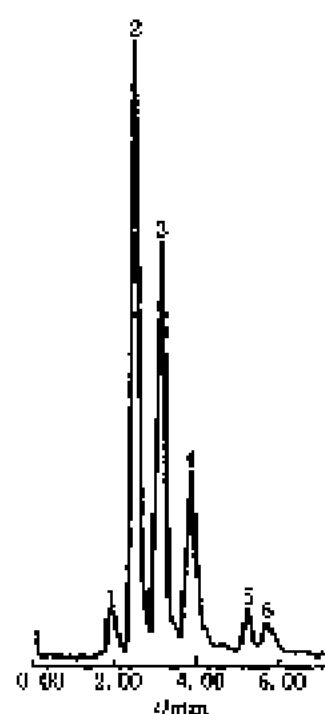


图 14-59　甾醇类化合物的 SFC 分离谱图（二）[47]

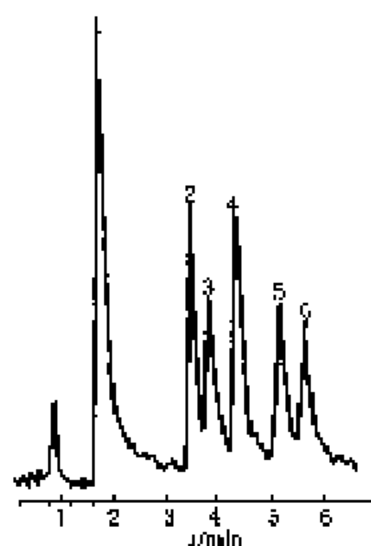
色谱峰：1—雄甾酮；2—黄体酮；3—睾酮；4—17α-羟基黄体酮；5—11-脱氧皮质醇；6—皮质酮

色谱柱：100 mm×1.0 mm 氰丙基硅胶 5 μm（填充）

柱　温：75℃

流动相：4%改良的 CO_2（1.42×10^7 Pa）（用甲醇）

检测器：热喷/粒子束界面



色谱峰：1—可的松；2—脱氢可的松；3—氢化可的松；4—氢化泼尼松；5—醋酸氢化泼尼松；6—倍他米松

色谱柱：250 mm×2.0 mm（内径），Spherisorb 53 CN，3 μm

柱　温：70℃

流动相：CO_2+(甲醇)（体积比=98：2）

检测器：质谱仪(EI mode)、HP5985B(250℃)

压　力：2.07MPa

图 14-60　甾醇类化合物的 SPC 分离谱图（二）



色谱峰：1—C[illegible]；2—C[illegible]；3—C[illegible]；4—C[illegible]；5—C[illegible]；6—C[illegible]；7—C[illegible]；8—C_{22}

色谱柱：160 mm×0.75 mm（内径），固定相为 Omni-PAC^{SM}-μm PRN-300（Dionex）polystyrene

柱　温：170℃

流动相：CO_2

检测器：FID（375℃）

图 14-61　直链饱和脂肪酸的 SPC 分离谱图[14]

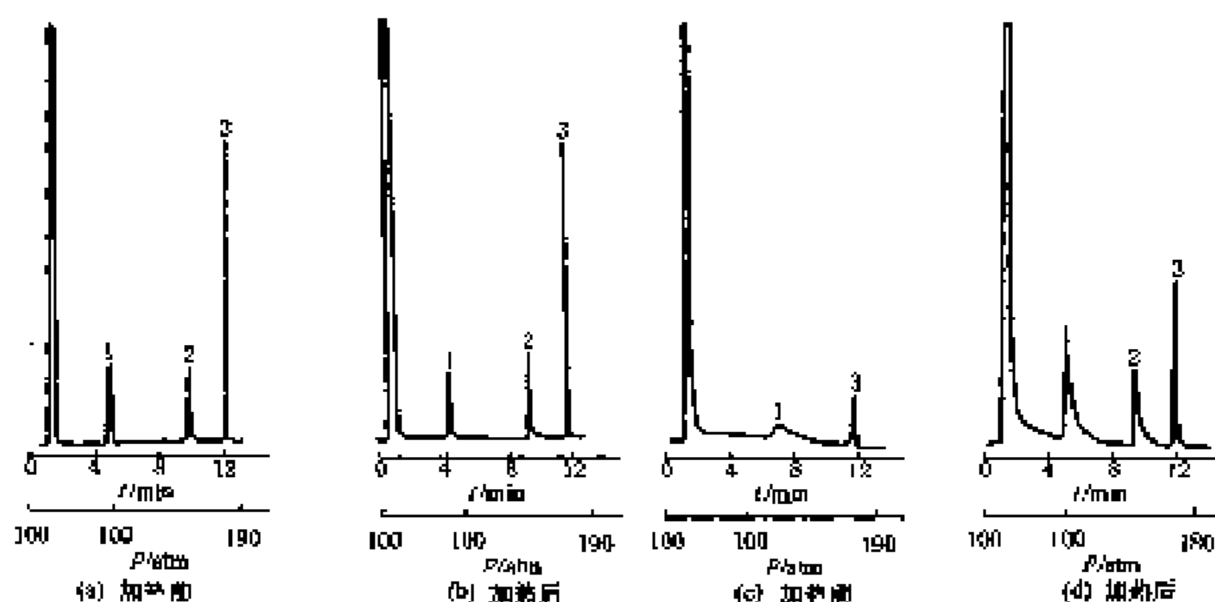


图 14-62　苯乙酮、萘酚和正二十四烷烃的 SFC 分离谱图（一）

色谱峰：1—苯乙酮；2—萘酚；3—正二十四烷烃

色谱柱：10 cm×1.0 mm（内径）；(a)、(b) C_8键；(c)、(d) Hypersil 甲基硅

柱　温：60℃

流动相：100% CO_2

注：1 atm＝0.101325 MPa

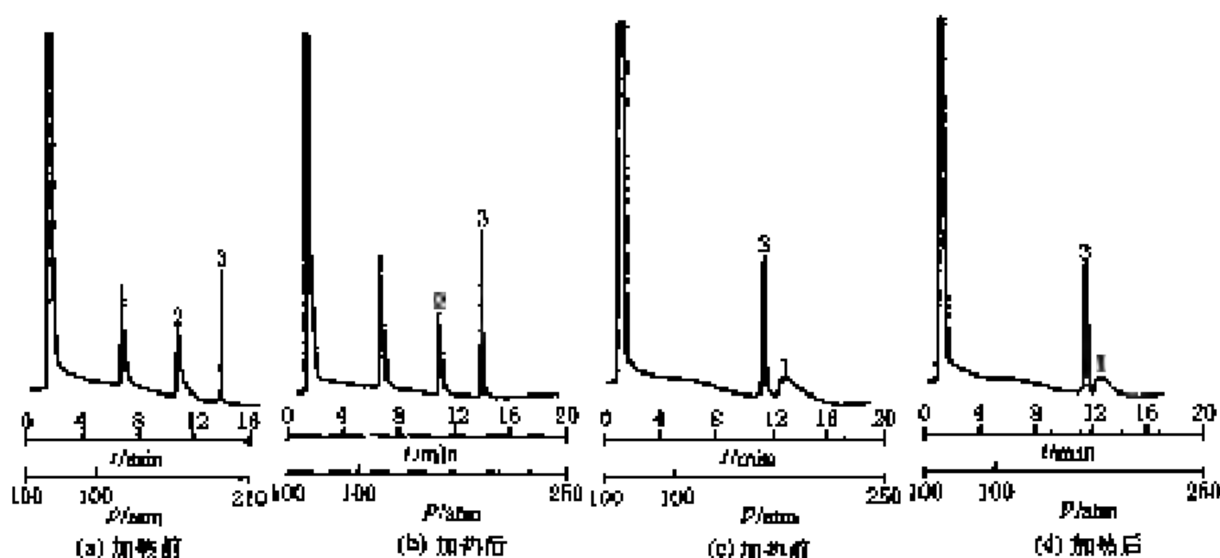


图 14-63　苯乙酮、萘酚和正二十四烷烃的 SFC 分离谱图（二）

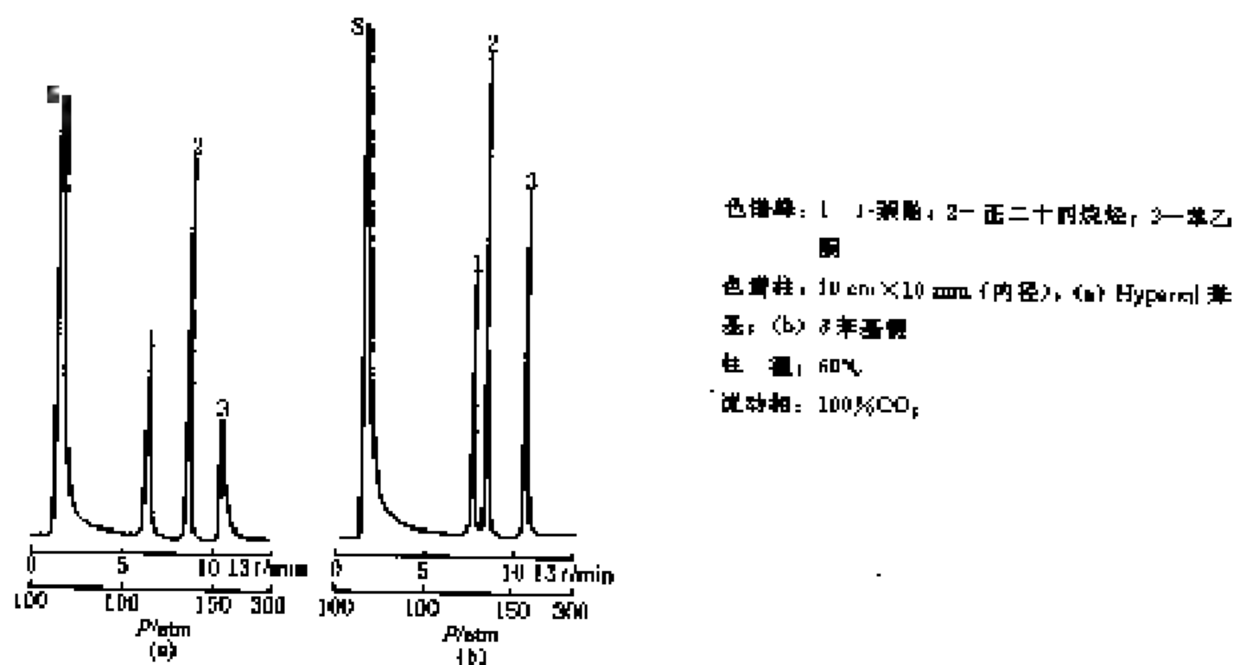
色谱峰：1—苯乙酮；2—萘酚；3—正二十四烷烃

色谱柱：10 cm×1.0 mm（内径）；(a)、(b) Deltabond C_{18}；(c)、(d) Hypersil C_{18}

柱　温：60℃

注：1 atm＝0.101325 MPa

流动相：100% CO_2



色谱峰：1—1-萘酚；2—正二十四烷烃；3—苯乙酮

色谱柱：10 cm×1.0 mm（内径），(a) Hypersil 苯基；(b) 8苯基柱

柱　温：60℃

流动相：100%CO_2

图 14-64　苯乙酮、萘酚和正二十四烷烃的 SFC 分离谱图（三）[39]

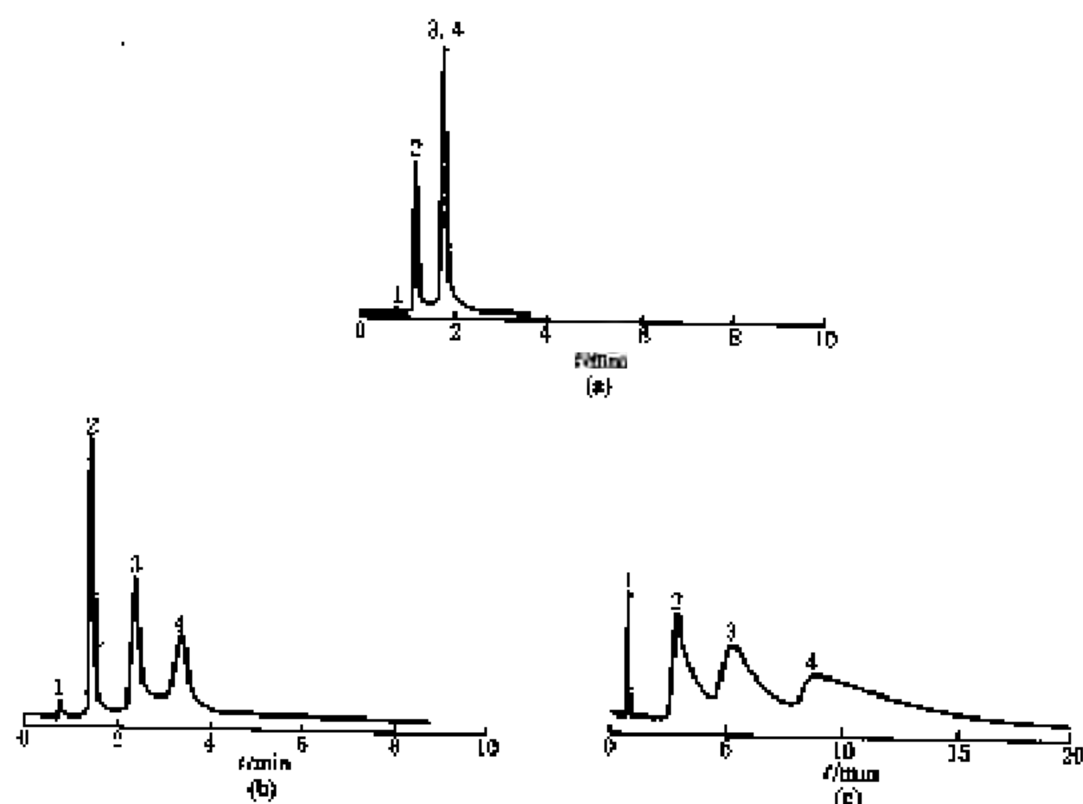


图 14-65　苯二酸的 SFC 分离谱图[44]

色谱峰：1—溶剂；2—邻苯二酸；3—间苯二酸；4—对苯二酸

色谱柱：100 mm×2.0 mm（内径），5μm 氨丙基硅胶（键合）

柱　温：40℃

流动相：(a) 2%MeOH+TBAOH；(b) 1%MeOH+TBAOH；(c) 0.5%MeOH+TBAOH

柱　压：出口为 18.0 MPa

检测器：UV(220 nm，430 nm)

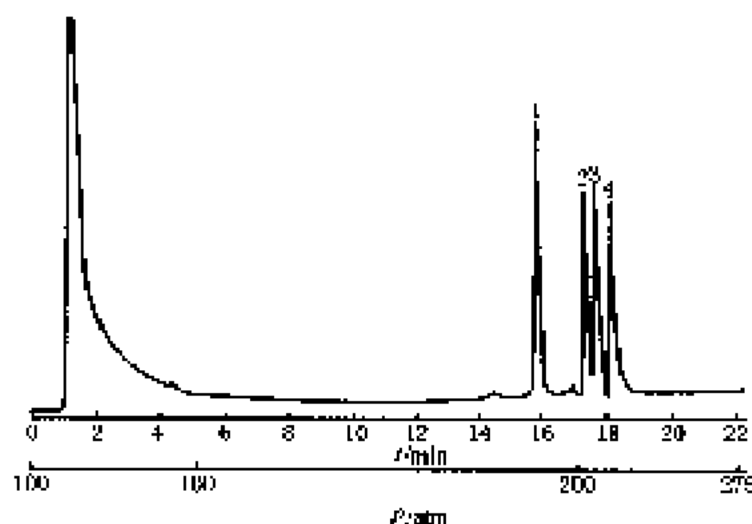


图 14-66 苯并喹啉类化合物的 SFC 分离谱图（一）[48]

色谱峰：1—7,8-苯并喹啉；2—2,3-苯并喹啉；3—3,4-苯并喹啉；4—5,6-苯并喹啉

色谱柱：250 mm×1.0 mm（内径），氰丙基硅胶，5 μm

柱　温：100°C

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（380°C）

注：1 atm＝0.101325 MPa

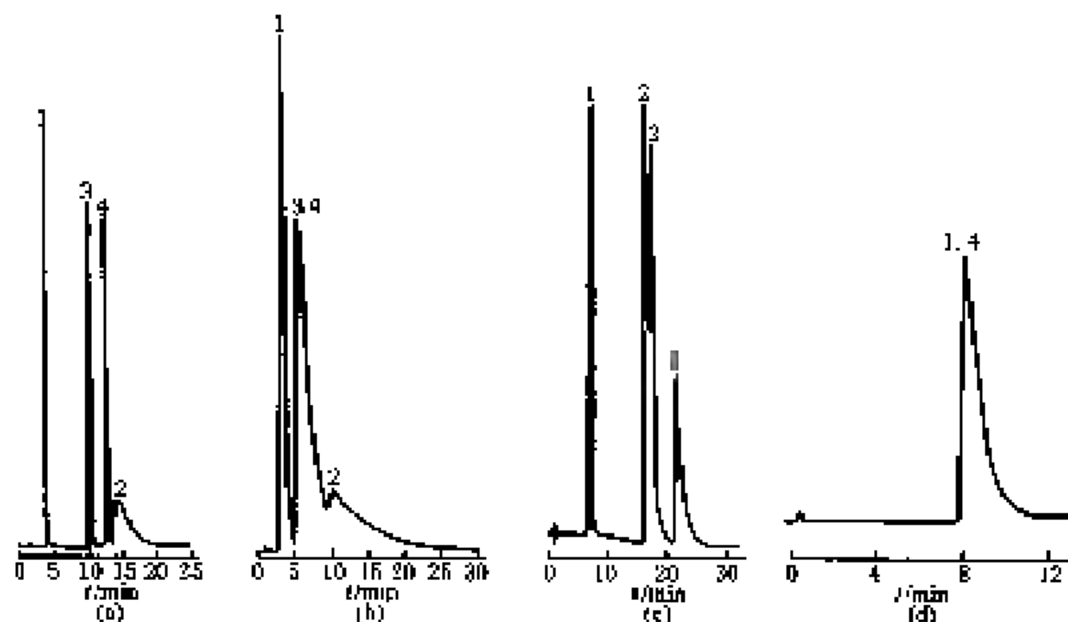


图 14-67 苯并喹啉类化合物的 SFC 分离谱图（二）[49]

色谱峰：1—7,8-苯并喹啉；2—2,3-苯并喹啉；3—3,4-苯并喹啉；4—5,6-苯并喹啉

色谱柱：(a) 250 mm×4.6 mm(内径)，硅胶(Alltech)，5μm；

(b) 250 mm×4.6 mm(内径)，C_{18}硅胶 5 μm(Alltech)；

(c) 250 mm×4.6 mm(内径)，5μm 丙氨基硅胶(Alltech)；

(d) 150 mm×4.6 mm（内径），PRP-1（Hamilton）

柱　温：55°C

流动相：(a)，(b) 99%CO_2—1%甲醇；(c) CO_2；(d) 99.5%CO_2+0.5%甲醇

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV(254 nm)

压　力：3.45 MPa



色谱峰：1—2,4-二氯苯氧乙酸甲酯；2—2-[4-[5-(三氟甲基)-2-吡啶]-氧]-苯氧丙酸；3—2,4-二氯苯氧基乙酸

色谱柱：100×2.0 mm(内径)，氰丙基，3 μm

柱　温：50°C

流动相：CO_2+甲醇（体积比=80：20）

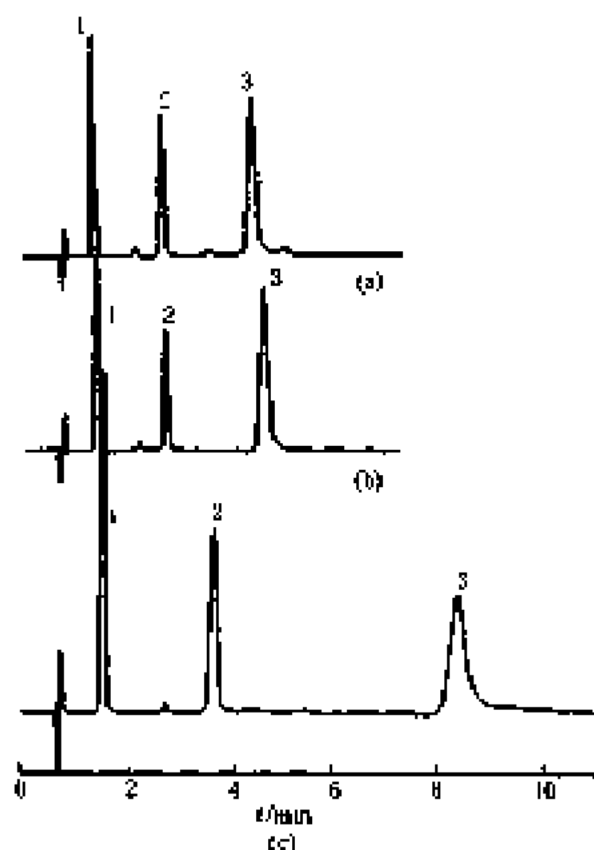
流　速：2 ml·min⁻¹

压　力：等压入口为25.3 MPa，出口为22.1 MPa

检测器：UV(284 nm)

注：图中括号内数据为流出时间，单位为min。

图14-68　苯氧基酸类化合物SFC分离谱图[39]



色谱峰：1—N,N-二甲基苯胺；2—N-甲基苯胺；3—苯胺

色谱柱：100 mm×2.0 mm(内径)，填充(a) Deltabond CN(5 μm)；(b) STD Hypersil CN (5 μm)；(c) Nucleosil Diol (7 μm)

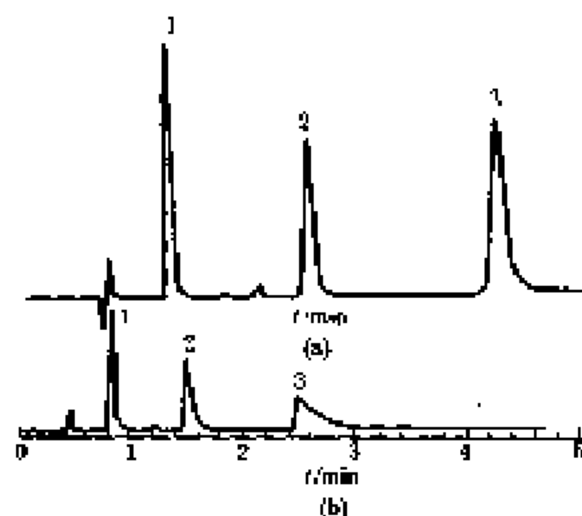
柱　温：40°C

流动相：超临界氟利昂-13，0.5 ml·min⁻¹，甲醇

柱　压：出口9.7 MPa

检测器：UV(230 nm，430 nm)

图14-69　苯胺类化合物的SFC分离谱图（一）[40]



色谱峰：1—N,N-二甲基苯胺；2—N-甲基苯胺；3—苯胺

色谱柱：100 mm×2.0 mm(内径)，5 μm 氰丙基硅胶 (Deltabond)

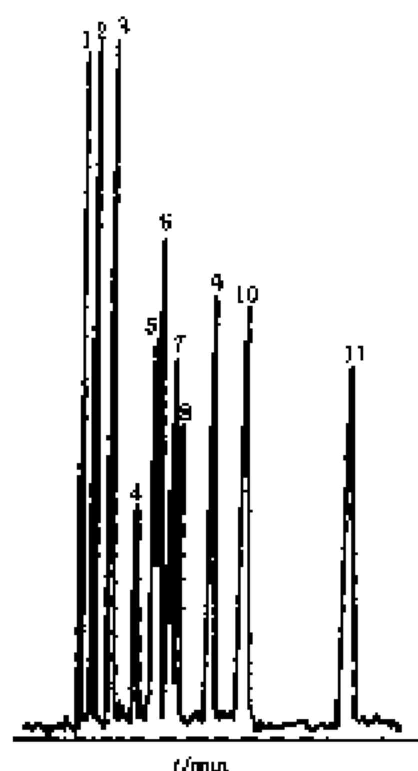
柱　温：40℃

流动相：(a) 氟利昂-13+1%MeOH；(b) 氟利昂-13

柱　压：出口 9.7 MPa

检测器：UV (220 nm，450 nm)

图 14-70　苯胺类化合物的 SFC 分离谱图（二）[illegible]



色谱峰(保留时间/min)：1—2-硝基苯酚 (0.64)；2—4,6-二硝基-邻甲苯酚 (0.77)；3—2,4-二硝基苯酚 (0.96)；4—2-氯苯酚 (1.23)；5—2,4-二甲基苯酚 (1.43)；6—2,4,6-三氯苯酚 (1.48)；7—2,4-二氯苯酚 (1.61)；8—苯酚 (1.68)；9—4-氯-3-甲基苯酚 (2.03)；10—五氯苯酚 (2.56)；11—4-硝基苯酚 (3.46)

色谱柱：200 mm×4.6 mm (内径)，diol-硅 (Hewlett-packard)，5μm

柱　温：37℃

流动相：4 ml·min^{-1} CO_2，210 ml·min^{-1} 0.05%三氟乙酸+甲醇

检测器：UV(210 nm，430 nm)

图 14-71　苯酚的 SFC 分离谱图[illegible]

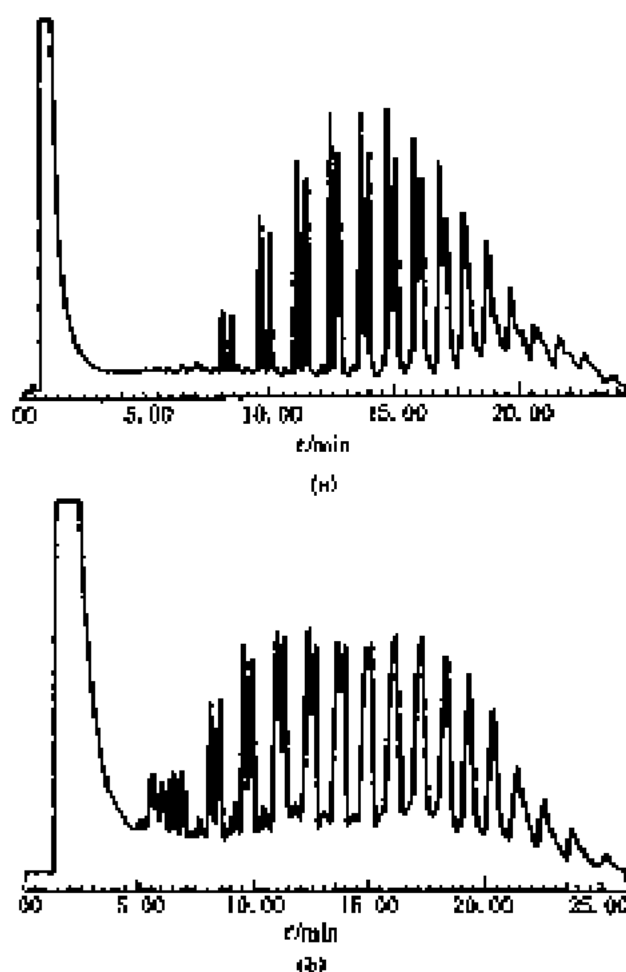


图 14-72　表面活性剂的 SFC 分离谱图[30]

色谱柱：30 cm×320 μm，氰丙基键合硅胶 5 μm ϕ-LC 填料

柱　温：100℃

流动相：(a) CO_2；(b) Xe

压　力：150 atm $\xrightarrow{2\ min}$ 130 atm $\xrightarrow{3\ atm\cdot min^{-1}}$ 400 atm (1 atm＝0.101325 MPa)

检测器：FTIR

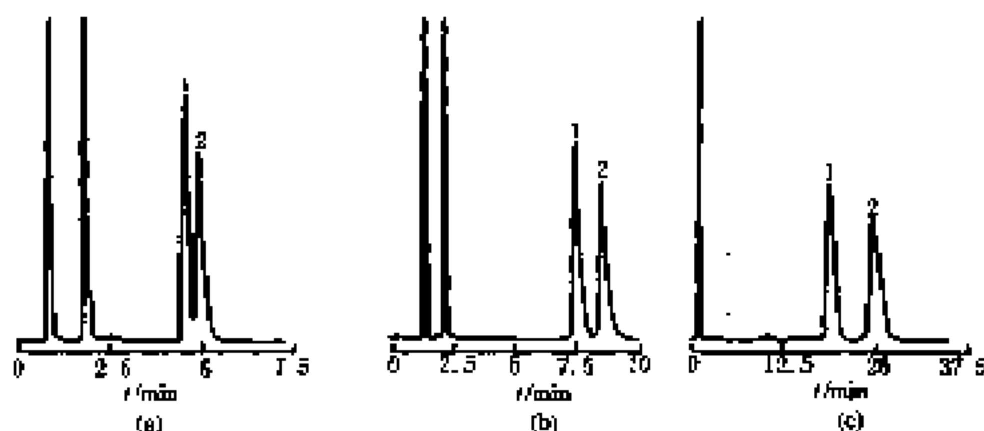


图 14-73　非对映体氨基甲酸酯的 SFC 分离谱图[31]

色谱峰：1—(S,R)-氨基甲酸酯；2—(R,R)-氨基甲酸酯

色谱柱：(a) 150 mm×4.6 mm (内径)，填充 5 μm ODS Inertsil；
(b) 250 mm×4.6 mm (内径)，填充 10 μm Finepak OH；
(c) 150 mm×4.6 mm (内径)，填充 10 μm Cosmosil NH_2

柱　温：40℃　　　　柱　压：(a) 10 MPa；(b) 20 MPa；(c) 25 MPa

流动相：环己烷 + φ＝0.3%乙醇　　　　检测器：UV(275 nm)

流　速：30 ml·h^{-1}

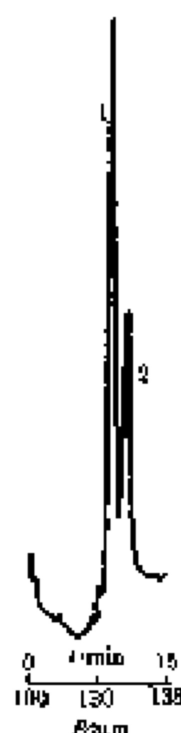


图 14-74　非常生化氨基酸 Tyr 和 Trp 的 SFC 分离谱图

色谱峰：1—酪氨酸；2—色氨酸
色谱柱：15 cm×1.0 mm(内径)，填充5 μm聚二乙烯基苯（Omnipac，PRN-500）
柱　温：145°C
流动相：氨
检测器：UV(280 nm)

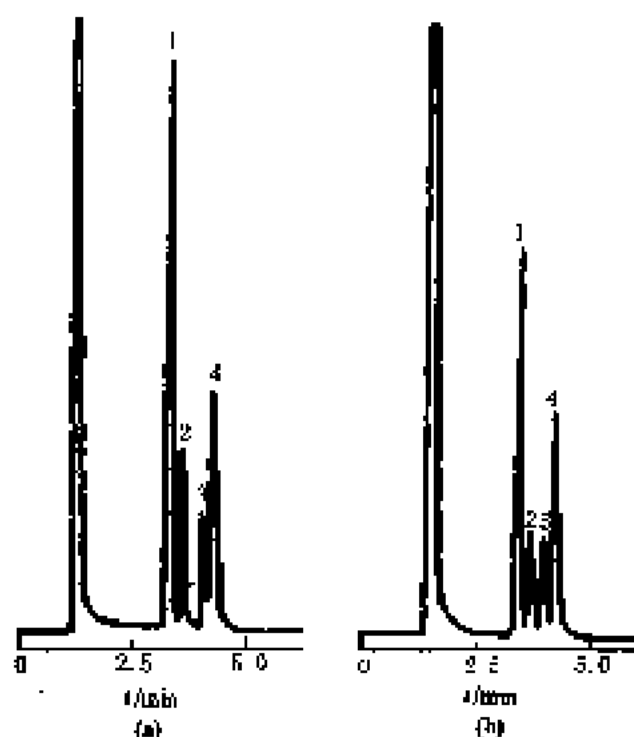
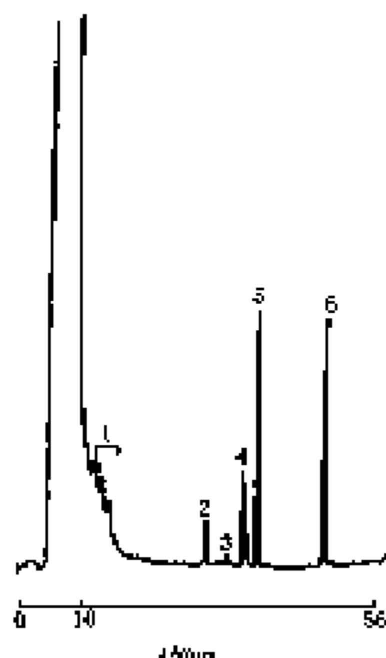


图 14-75　单萜烯的 SFC 分离谱图

色谱峰：1—COOMe；2—COOMe；3—COOMe；4—COOMe
色谱柱：250 mm×4.0 mm(内径)，柱相为辛基聚硅氧烷
柱　温：(a) 25°C（临界下）；(b) 40°C（超临界下）
流动相：CO_2
检测器：火焰离子化(140°C)
压　力：(a) 11 MPa；(b) 15.7 MPa



色谱峰：1—小檗树碱，2—2-硝基苯甲酸；3—间苯二酚；4—硝化甘油；5—三硝精；6—二正丙基己二酸。

色谱柱：25 m×250 μm(内径)，填充熔化硅胶和聚-50-C_8改性的 Nucleosil

柱　温：120°C

流动相：二氯甲烷

柱　压：75 atm $\xrightarrow{10\ min}$ 75 atm $\xrightarrow{3\ atm \cdot min^{-1}}$ 400 atm (1 atm=0.101325 MPa)

图 14-76　炸药和 PAHs 类化合物的 SFC 分离谱图

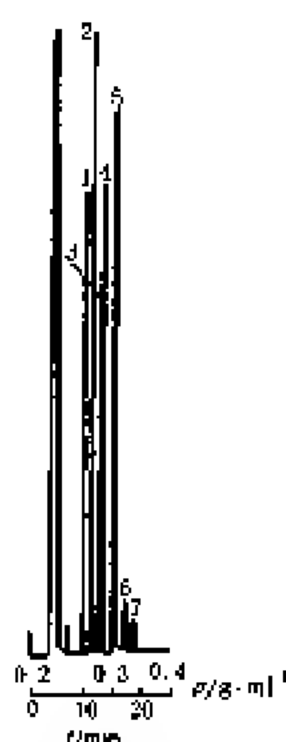


图 14-77　炸药的 SFC 分离谱图 (一)[illegible]

色谱峰：1—2,6-二硝基甲苯；2—2,4-二硝基甲苯；3—2,4,6-三硝基甲苯；4—1,3,5-二硝基甲苯；5—2,4,6-三硝基苯胺；6—1,3,5-三硝基-1,3,5-三氮杂环己烷(RDX)；7—1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-四氮杂环辛烷(HMX)

色谱柱：5 m×50 μm(内径)，固定相为1%乙烯基+5%苯基+94%甲基聚硅氧烷(SE-54)

柱　温：120°C

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(375°C)

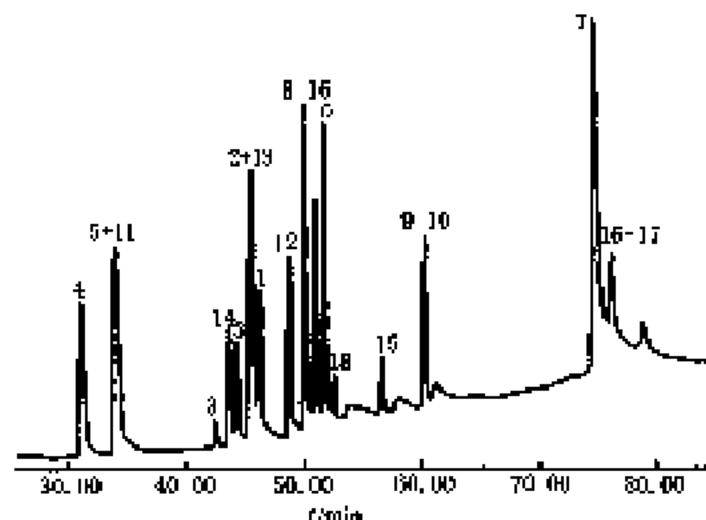


图 14-78　炸药的 SFC 分离谱图 (二)[illegible]

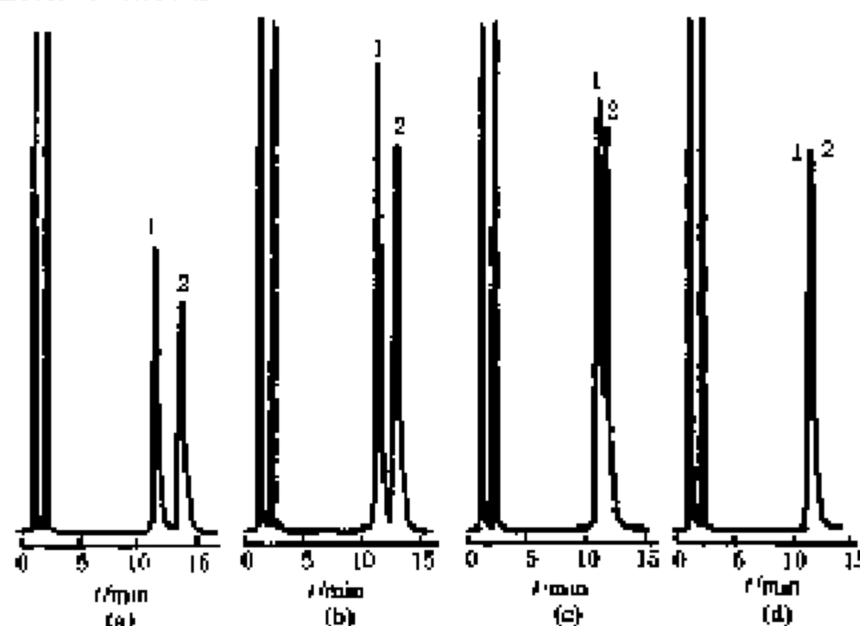
色谱峰：1—1,2-二硝基苯；2—1,4-二硝基苯；3—2,4-二硝基乙苯；4—3-硝基乙苯；5—4-硝基乙苯；6—2-硝基二苯胺；7—4-硝基二苯胺；8—N-亚硝基二苯胺；9—2,3,4-三硝基甲苯；10—2,4,5-三硝基甲苯；11—乙二醇二硝酸酯；12—2,3-二硝基甲苯；13—2,4-二硝基甲苯；14—2,6-二硝基甲苯；15—3,4-二硝基甲苯；16—2,4,6-三硝基甲苯；17—1,3,5-三硝基-1,3,5-三氮杂环己烷(RDX)；18—季戊四醇-四硝酸酯

色谱柱：10 m×100 μm(内径)，固定相为 Polyethylene，glycol

柱　温：100°C

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(350°C)



色谱峰：(a) 1—(S,R)-2-癸醇；2—(R,R)-2-癸醇
(b) 1—(S,R)-3-癸醇；2—(R,R)-3-癸醇
(c) 1—(S,R)-4-癸醇；2—(R,R)-4-癸醇
(d) 1—(S,R)-5-癸醇；2—(R,R)-5-癸醇

色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径)，填充 10 μm Cosmosil NH_2

柱　温：40°C

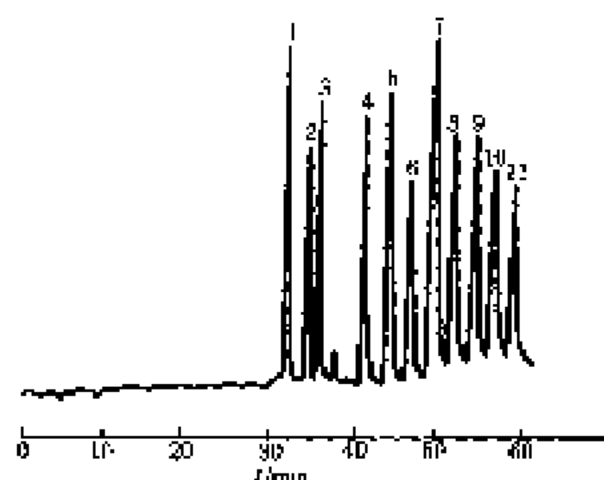
流动相：环己烷—φ=0.2%乙醇

流　速：$30\ ml \cdot h^{-1}$

柱　压：15 MPa

检测器：UV(275 nm)

图 14-79　癸醇类化合物的 SFC 分离谱图[illegible]



色谱峰：1—胆甾烯基乙酸酯；2—胆甾烯基正丁酸酯；3—胆甾烯基巴豆酸酯；4—胆甾烯基壬酸酯；5—胆甾烯基苯甲酸酯；6—胆甾烯基月桂酸酯；7—胆甾烯基肉豆蔻酸酯；8—胆甾烯基棕榈酸酯；9—胆甾烯基十八烷酸酯；10—胆甾烯基花生酸酯；11—胆甾烯基二十二烷酸酯

色谱柱：8 m×50 μm(内径)，DB-1，液膜厚度为0.4 μm

检测器：离子检测 (200℃)

流动相：CO_2

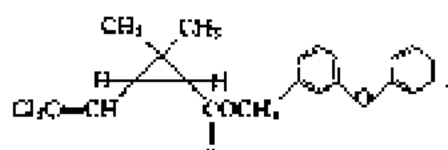
柱　温：110℃

压　力：起始为120 atm，以后以0.4 atm・min^{-1}变化 (1 atm=0.101325 MPa)

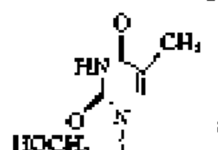
图 14-80　胆甾烯基酯的SFC分离谱图[?]



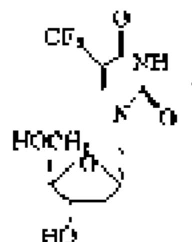
色谱峰：1.



2.



3.



4.

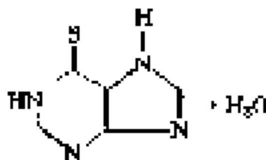


图 14-81　药物的SFC分离谱图 (一)[10]

色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径)，β键TM的氰丙基(Keystone)，5 μm

柱　温：60℃

流动相：CO_2 (2 ml・min^{-1})＋甲醇 (150 μl・min^{-1}，1.5 min)，然后甲醇由150 μl・min^{-1}变化到450 μl・min^{-1}，2.0 min

检测器：UV(254 nm)

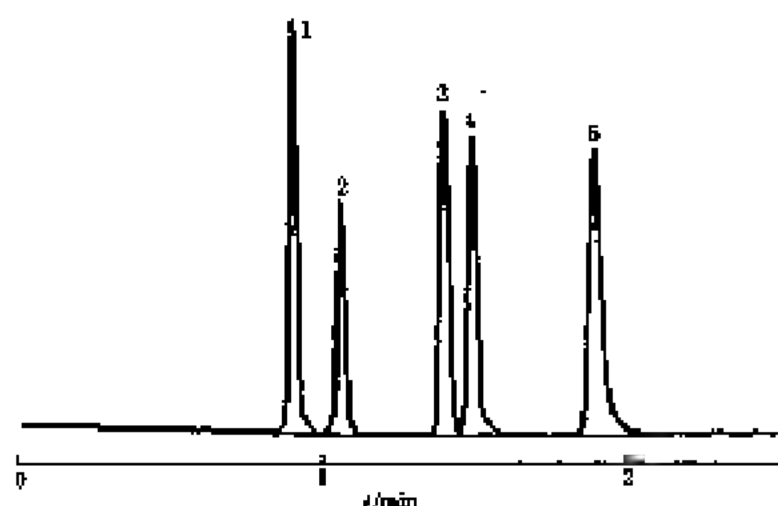


图 14-82　药物的SFC分离谱图（二）[34]

色谱峰：1—苯基丁氮酮；2—苯巴比妥；3—咖啡因；4—[illegible]；5—强的松龙

色谱柱：250 mm×4.6 mm，填料固定相为TMS（Dupont zorbax）6 μm

柱　温：60℃

流动相：CO_2梯度，25 min内从10至36 MPa；甲醇梯度固定在16%

流　速：1.5 ml·min^{-1}

检测器：UV（254 nm）

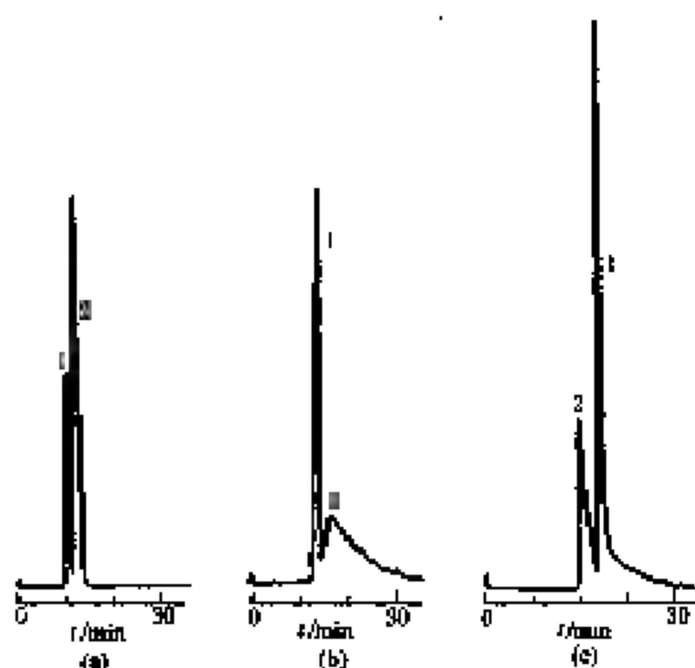


图 14-83　顺、反芪异构体正相LC（a）和SFC（b、c）分离谱图[35]

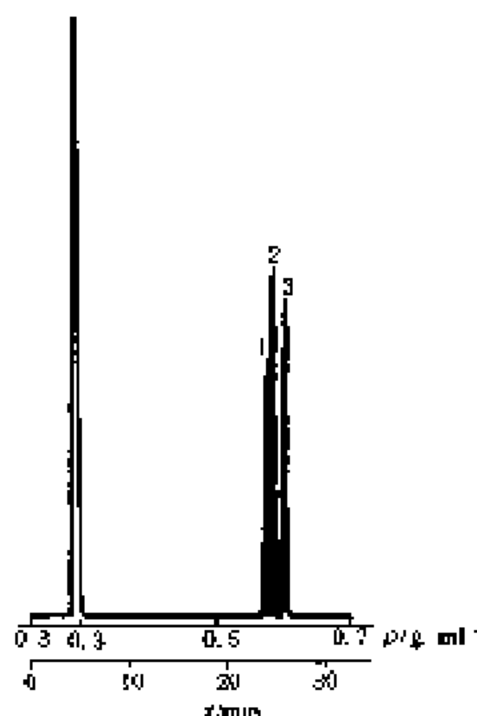
色谱峰：1—顺芪；2—反芪

色谱柱：(a) 450 mm×0.53 mm(内径)；(b)、(c) 250 mm×1 mm（内径）

柱　温：(b)、(c) 44℃

流动相：(a) 正己烷+乙腈（体积比=99∶1）；(b) CO_2，压力为11.77MPa；
(c) CO_2+水

流　速：(a) 15 μl·min^{-1}，(b)、(c) 12 ml·min^{-1}



色谱峰：1—2',3',4'-三-O-甲苯甲酰尿苷；2—6-三甲基硅乙炔-2',3',5'-三-O-甲苯甲酰-尿苷；3—5-Iodo-2',3',5'-三-O-甲苯甲酰尿苷

色谱柱：5 m×50 μm(内径)固定相为1%乙烯基+5%苯基+94%甲基聚硅氧烷（SE-54）

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器　火焰离子化(375℃)

图 14-84　核苷类化合物的SFC分离谱图[33]

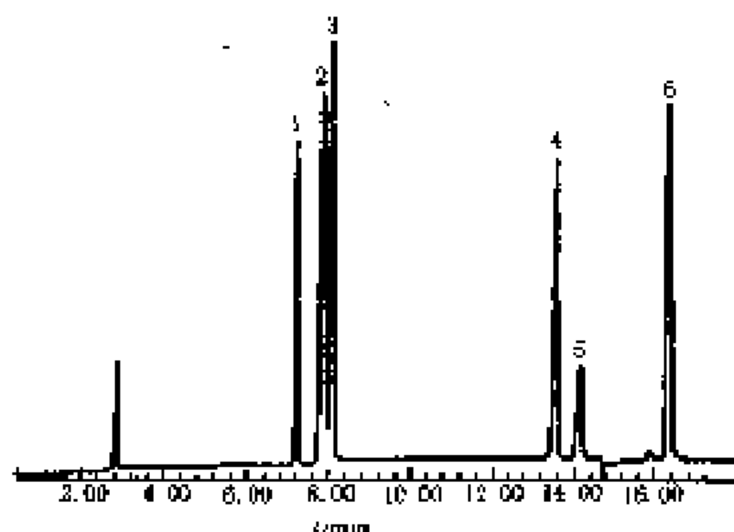
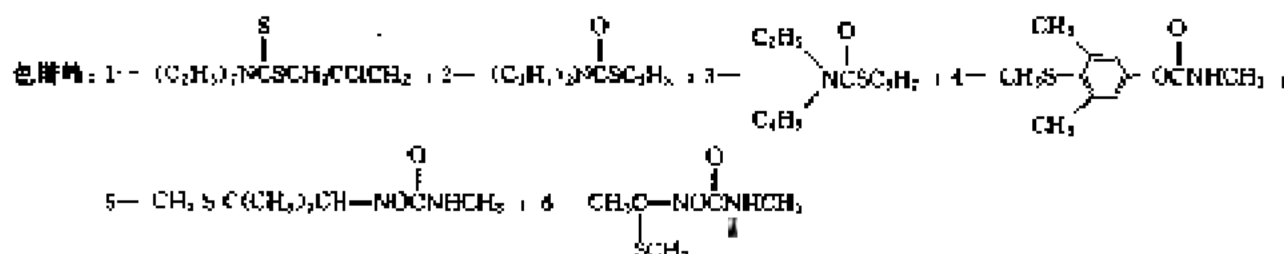


图 14-85　氨基甲酸酯类化合物的SFC分离谱图[34]

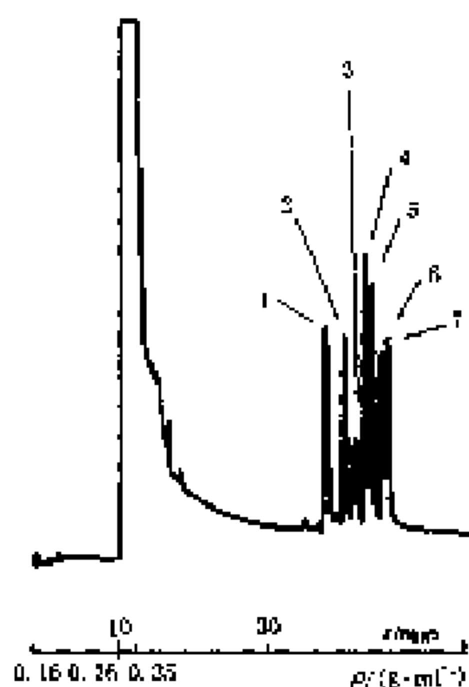


色谱柱：250 mm×4.6 mm（内径），Adsorbosphere 硅胶 5 μm

柱　温　40℃

流动相：CO_2+甲醇（体积分数梯度）0.1% $\xrightarrow{0.8\%\cdot min^{-1}}$ 1.0% $\xrightarrow{0.4\%\cdot min^{-1}}$ 3.8% $\xrightarrow{10\%\cdot min^{-1}}$ 15%

检测器：UV(225 nm)



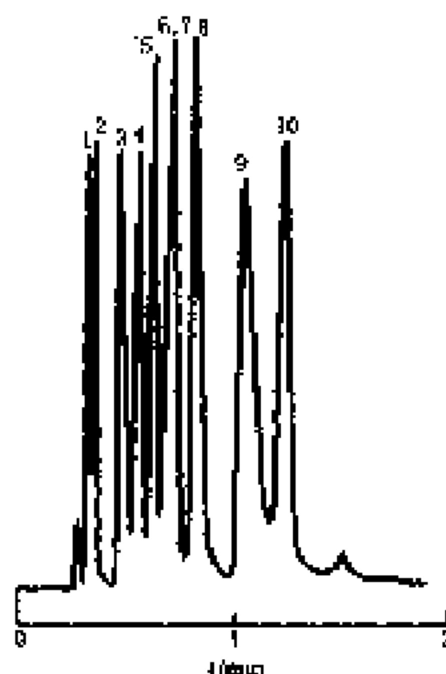
色谱峰：1—$C_{14:0}$；2—$C_{16:0}$；3—$C_{18:1}$-顺-9；4—$C_{18:2}$-顺-9，12；5—$C_{18:2}$-反-9，12；6—$C_{18:3}$-顺-9，12，15；7—$C_{18:3}$-顺-6，9，12

流动相：CO_2

色谱柱：12 m×50 μm(内径)，[illegible]甲基聚硅氧烷

柱温：65°C

图 14-86 脂肪酸分析色谱图



色谱峰：1—苯甲酸；2—2-羟基苯甲酸；3—2,6-二羟基苯甲酸；4—3-羟基苯甲酸；5—4-羟基苯甲酸；6—2,4-羟基苯甲酸；7—2,5-二羟基苯甲酸；8—2,3,4-三羟基苯甲酸；9—2,4,6-三羟基苯甲酸；10—3,5-二羟基苯甲酸

色谱柱：100 mm×2.0 mm(内径)，柱相为氨丙基硅胶 (Nucleosil)，7 μm

柱温：60°C

流动相：7.4%甲醇+0.6%柠檬酸+CO_2

流速：1.0 ml·min⁻¹

检测器：UV (230 nm，430 nm)

压力：等压（出口处为 20 MPa）

图 14-87 羟基苯甲酸的 SFC 分离谱图

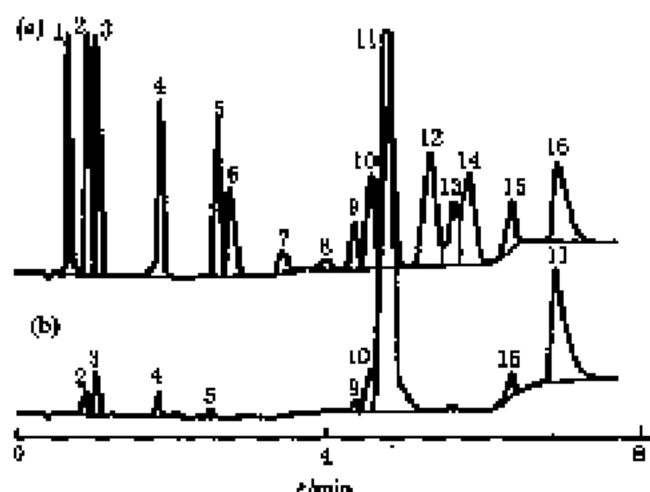


图 14-88 柑橘和肉桂油的 SFC 分离谱图[34]

色谱峰：1—α-蒎烯；2—苎烯；3—对伞花烃；4—芳樟醇；5—香茅醛；6—苯甲醛；7—樟脑；8、10 和 15—乙酸肉桂酯和副产品；9—龙脑；11—肉桂醛；12—苯甲醇；13—α-松油醇；14—β-苯基乙醇；16—丁香油酚

色谱柱：150 mm×4.6 mm，固定相为二氧化硅(Keystone)，5 μm

柱　温：125℃

流动相：CO_2 梯度，9 MPa，保持 5.5 min

乙醇梯度：0%乙醇 0.5 min，在 0.5 min 内升至 0.5%，保持 4 min，再在 1 min 内升至 7%，停留 2 min

检测器：UV(210 nm)

流　速：1.5 ml·min^{-1}至 2 ml·min^{-1} 0.5 min，保 3.5 min，1 min 内再升 4 ml·min^{-1}，保 2 min

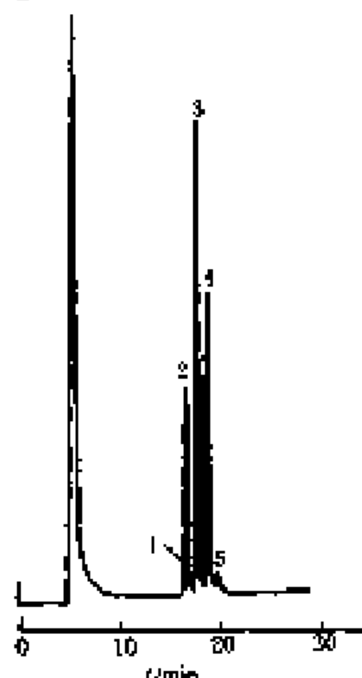


图 14-89 黄油中三甘油酯的 SFC 分离谱图[35]

色谱峰：1—甘油-1-十八酸-2,3-二(油酸)酯；2—甘油-1,3-二(棕榈酸)-2-油酸酯；3—甘油-1-棕榈酸-2-油酸-3-十八酸酯；4—甘油-1,3-二(十八酸)-2-油酸酯；5—甘油-1-十八酸-2-油酸-3-花生酸酯

色谱柱：10 m×50 μm(内径)

流动相：CO_2(200℃)

检测器：FID(325℃)

线性压力：(250～400)atm[(25.3～40.6)MPa]

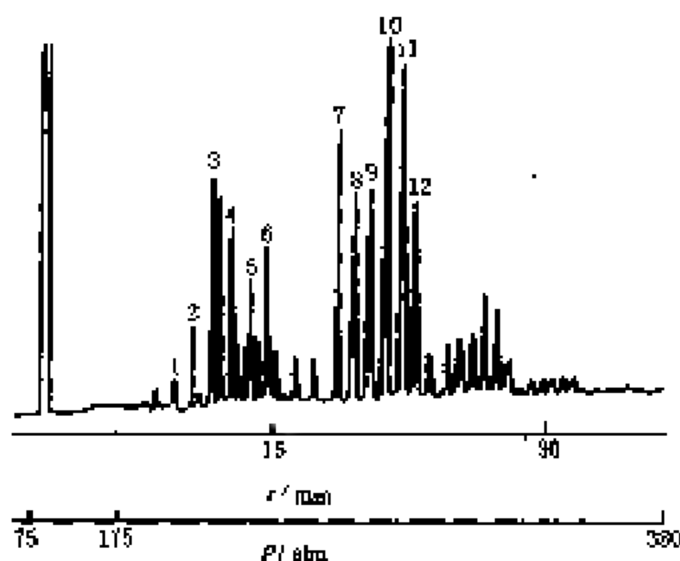


图 14-90 黄蜂蜡的 SFC 分离谱图[36]

色谱峰①：1—C_{23} (324)；2—C_{25} (352)；3—C_{27} (380)；4—C_{29} (408)；5—C_{31} (436)；6—C_{33} (464)；7—$C_{15}H_{31}CO_2C_{24}H_{49}$ (592)；8—$C_{15}H_{31}CO_2C_{26}H_{53}$ (620)；9—$C_{15}H_{31}CO_2C_{28}H_{57}$ (648)；10—$C_{15}H_{31}CO_2C_{30}H_{61}$ (676)；11—$C_{15}H_{31}CO_2C_{32}H_{65}$ (704)；12—$C_{15}H_{31}CO_2C_{34}H_{69}$ (732)

① 峰 1～6 为烃类，其他为酯类；括号内数值为分子量。

色谱柱：10m×50μm，SE-54，液膜厚度 0.2μm

流动相：CO_2

柱　温：380℃

检测器：FID

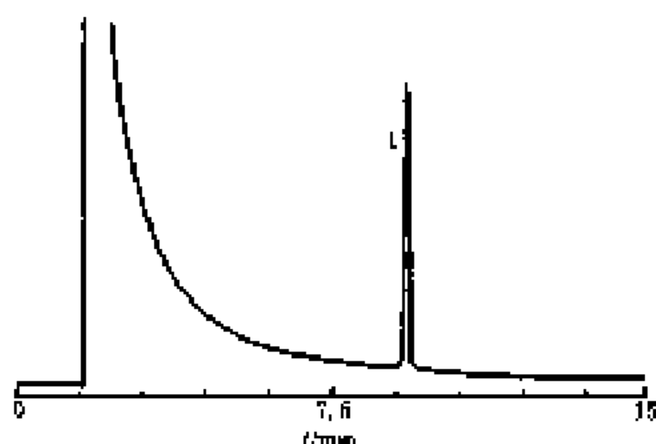


图 14-91 植酸衍生物的 SFC 分离谱图[26]

色谱峰：1—肌醇六磷酸-$(TMS)_{12}$

色谱柱：8 m×50 μm(内径)，DB-1，液膜厚度为 0.2 μm

柱 温：150℃

流动相：CO_2

柱 压：130 atm，10 atm·min^{-1} （1 atm＝0.101325 MPa）

检测器：火焰离子化 （300℃）

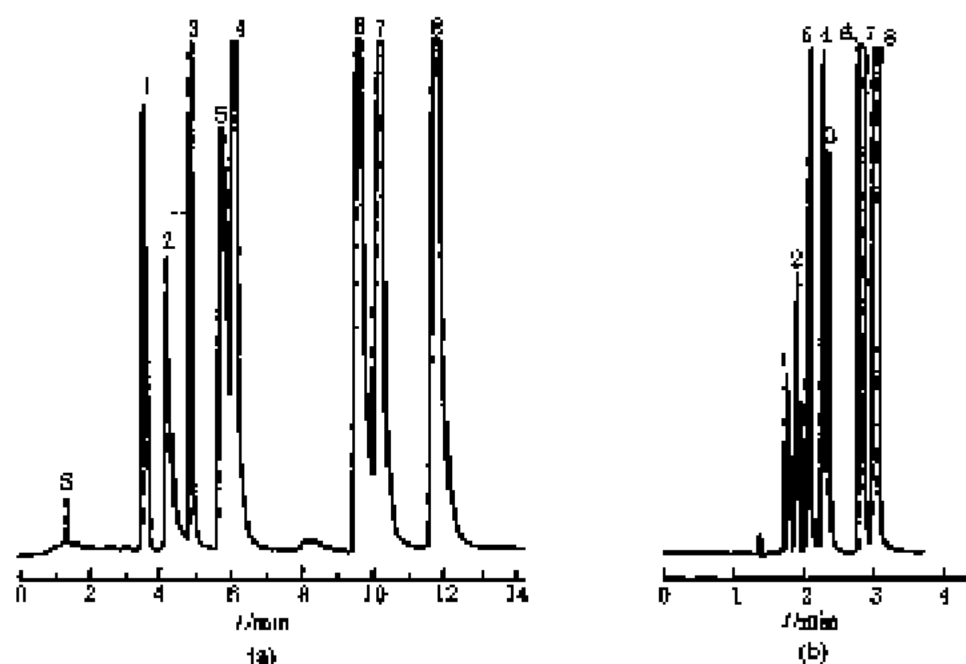


图 14-92 氮杂芳烃的 SFC 分离谱图 （一）[27]

色谱峰：1—喹喔啉；2—吡啶；3—7,8-苯并喹啉；4—喹啉；5—喹唑啉；6—吖啶；7—菲啶；8—5,6-苯并喹啉

色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径)，Aminopropyl(Alltech)，5μm

流动相：(a) 99.8%CO_2＋0.2%甲醇；(b) 98%CO_2－2%甲醇

柱 温：50℃

流 速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV(254 nm)

压 力：14.5 MPa

进样体积：2 μl

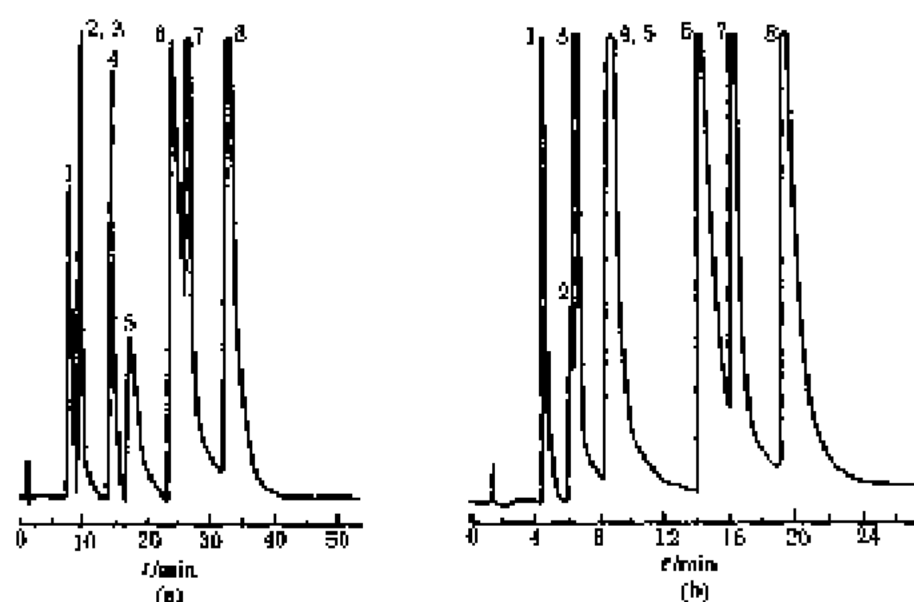


图 14-93 氮杂芳烃的 SFC 分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—喹喔啉，2—吡啶，3—7,8-苯并喹啉，4—喹啉，5—喹唑啉，6—吖啶，7—菲啶，8—5,6-苯并喹啉

色谱柱：250 mm×4.6 mm(内径) Aminopropyl（Alltech），5 μm

柱　温：50℃

流动相：(a) 100% CO_2，(b) 99.9% CO_2+0.1%甲醇

流　速：2 ml·min^{-1}

检测器：UV(254 nm)

进样体积：2 μl

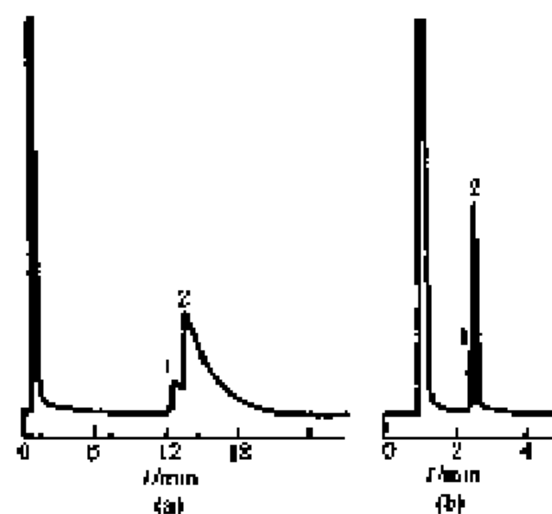


图 14-94 氯-2-甲基吡啶的 SFC 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—邻氯-2-甲基吡啶，2—对氯-2-甲基吡啶

色谱柱：150 mm×4.0 mm(内径)，聚合物硅胶（Nucleosil），5 μm

柱　温：60℃

流动相：(a) CO_2，(b) 水+CO_2

检测器：火焰离子化（140℃）

压　力：(a) 19 MPa，(b) 27 MPa

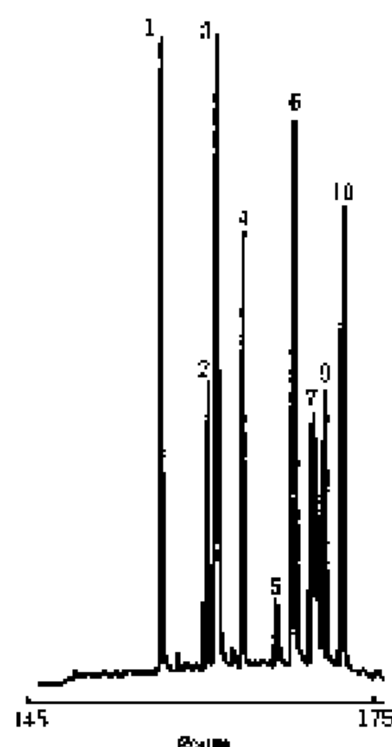
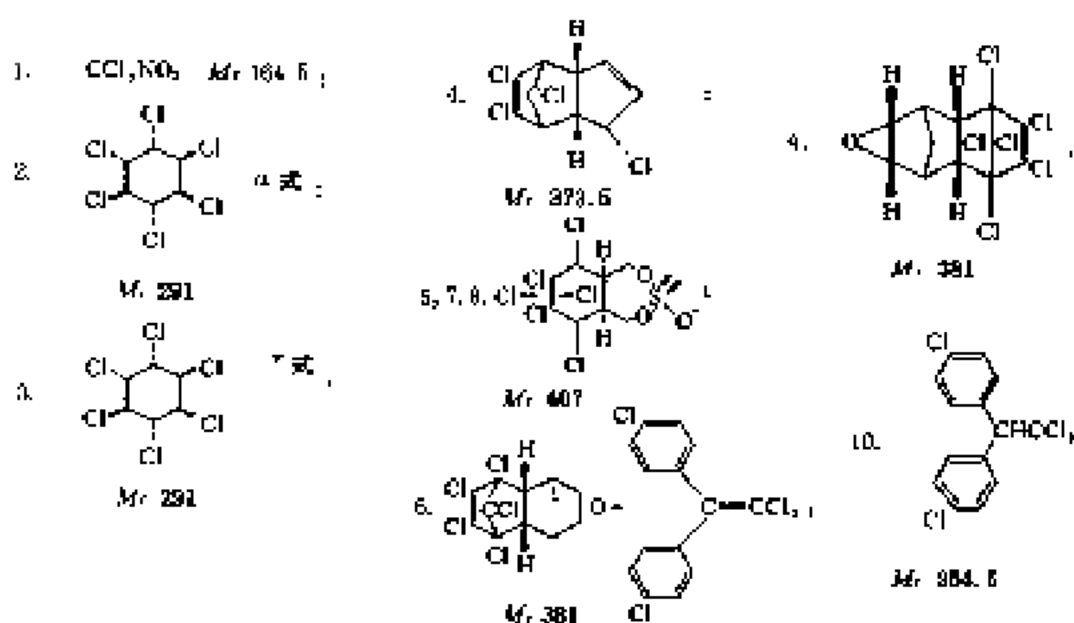


图 34-95　有机氯杀虫剂的 SFC 分离谱图[90]

色谱峰：



色谱柱：20 m×50 μm(内径)，柱相为 DB-1 聚甲基硅氧烷，液膜厚度为 0.4μm

柱　温：150℃

流动相：CO_2

检测器：电子捕获(350℃)

压　力：开始为 100 atm，然后以 10 atm·min^{-1}变化 (1 atm=0.101325 MPa)

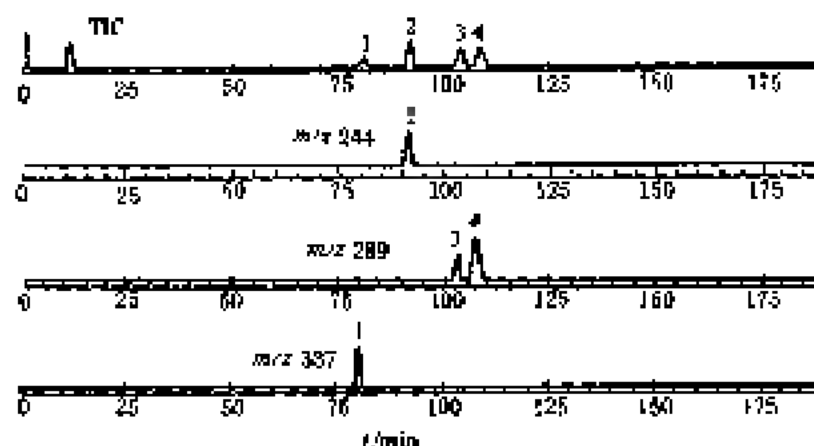
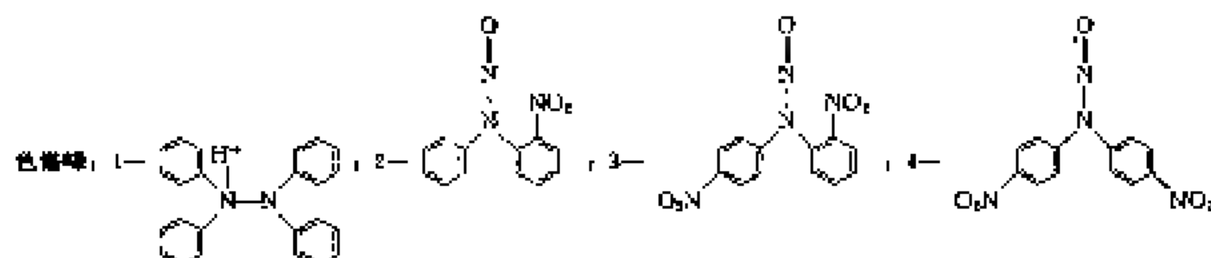


图 14-96 硝基二苯胺的 SFC 分离谱图[39]



色谱峰：1—；2—；3—；4—

色谱柱：150 mm×2.0 mm(内径)，5 μm 氰丙基硅胶
柱 温：60℃
流动相：CO_2
检测器：Vestec 热喷式 LC-MS 甲烷化学离子化
压 力：10.13 MPa，2 min

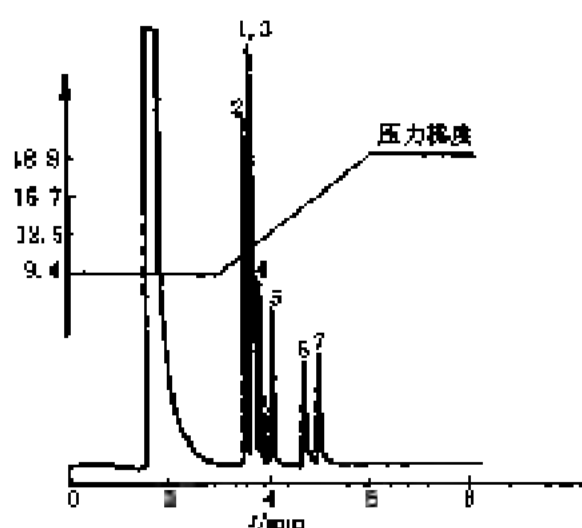


图 14-97 硝基苯类化合物的梯度压力 SFC 分离谱图[40]

色谱峰：1—1-硝基苯；2—2-硝基甲苯；3—3-硝基甲苯；4—4-硝基甲苯；5—1-氯-2-硝基苯；6—1-氯-2,4-二硝基苯；7—1-硝基萘

色谱柱：250 mm×4.0 mm(内径)，柱相为辛基聚硅氧烷(RP-8)

柱温：40℃
流动相：CO_2
压 力：梯度如图所示
检测器：火焰离子化(140℃)

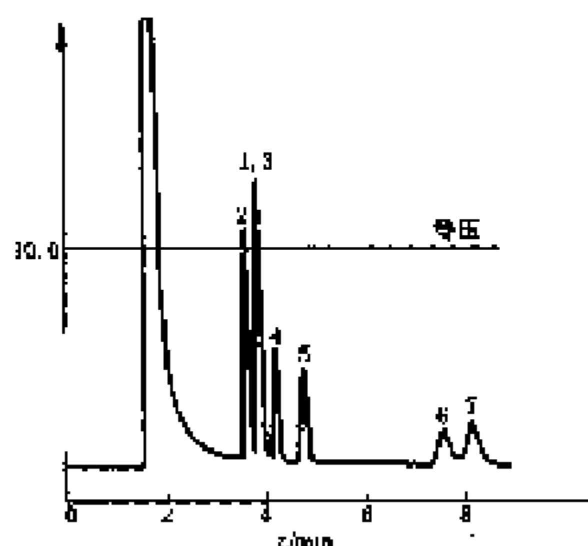
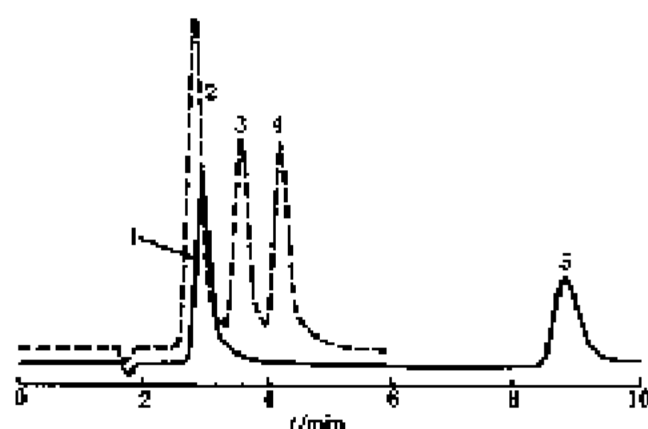


图 14-98 硝基苯类化合物的等压 SFC 分离谱图[40]

色谱峰：1—1-硝基苯；2—2-硝基甲苯；3—3-硝基甲苯；4—4-硝基甲苯；5—1-氯-2-硝基苯；6—1-氯-2,4-二硝基苯；7—1-硝基萘

色谱柱：250 mm×4.0 mm(内径)，柱相为辛基聚硅氧烷(RP-8)
柱 温：40℃
流动相：CO_2
压 力：100bar
检测器：火焰离子化(140℃)



色谱峰：1—2-(2-噻吩基)乙醇；2—2-(2-噻吩基)乙醇；3—1-(2-噻吩基)丙酮；4—甲基对甲基苯硫醚；5—苯基硫醚

色谱柱：20 cm×318 μm(内径)，填充 7 μm Hypercarb PGC99

柱　温：50℃

流动相：CO_2+1.5%甲醇

柱　压：27.6MPa

检测器：Sievers 350 硫化学发光

图 14-99　硫醚类化合物的 SFC 分离谱图（一）[illegible]

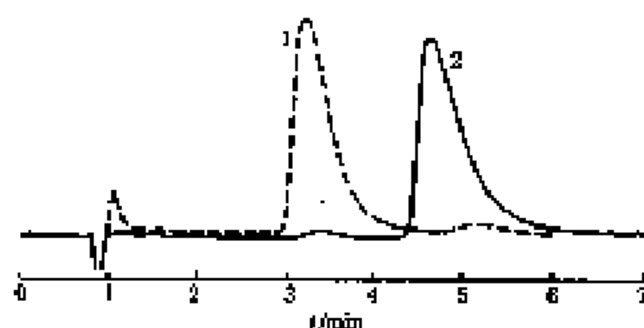


图 14-100　硫醚类化合物的 SFC 分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—2-(2-噻吩基)丙二酸；2—2-(2-噻吩基)乙醛酸

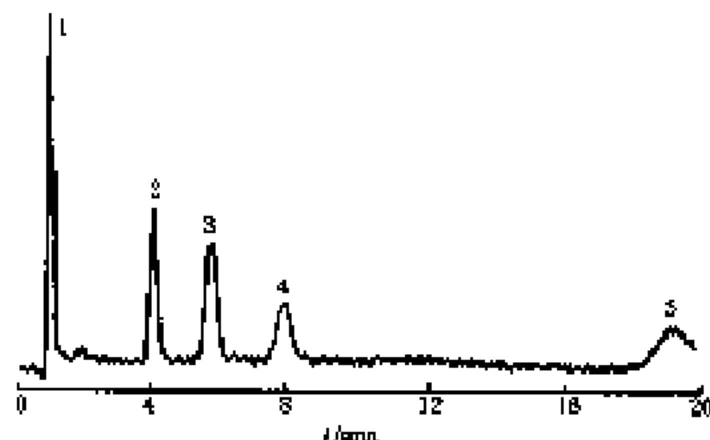
色谱柱：20 cm×318 μm(内径)，填充 7 μm Hypercarb PGC99

柱　温：60℃

流动相：CO_2+1.5%甲醇

柱　压：27.6MPa

检测器：Sievers 350 硫化学发光



色谱峰：1—四氢噻吩；
2—甲基对甲苯基硫醚；
3—苯并［b］噻吩；
4—苯基硫醇；
5—苯基二硫醚

图 14-101　硫醚类化合物的 SFC 分离谱图（三）[illegible]

色谱柱：20 cm×318 μm(内径)，填充 Hypercarb-6 PGC99，7μm

柱　温：30℃

流动相：CO_2+7%苯

柱　压：278 atm

检测器：Sievers 350 硫化学发光

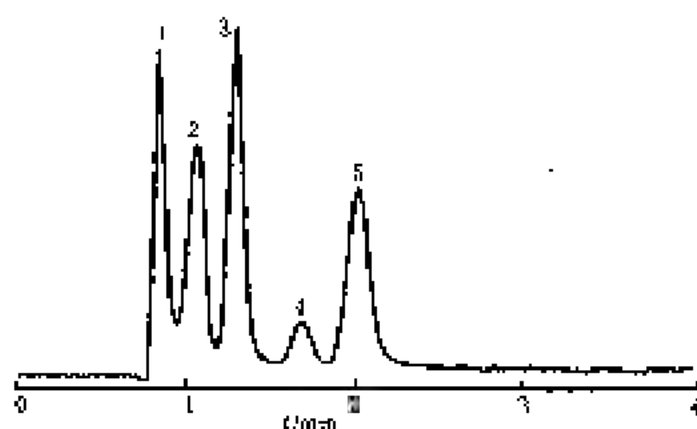


图 14-102　硫醚类化合物的SFC分离谱图（四）[47]

色谱峰：1—硫氮噻吩；2—甲基对甲苯基硫醚；3—萘并［b］噻吩；4—苯基硫醚；5—苯基二硫醚

色谱柱：20 cm×316 μm(内径)，填充 Hypercarb-6 PGC96，7 μm

流动相：1%正十六烷烃+CO_2

柱　温：60℃

柱　压：27.6 MPa

检测器：Sievers，350 硫化学发光

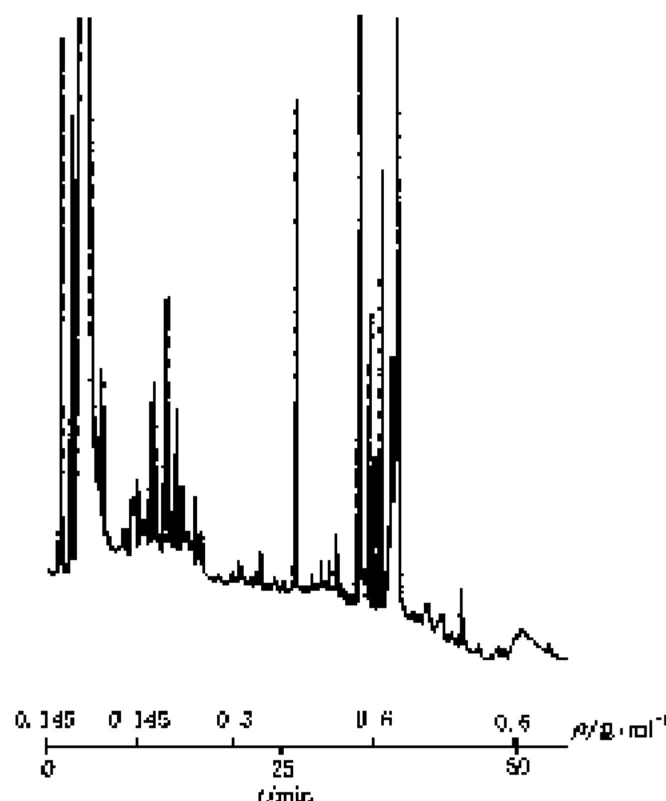


图 14-103　葡萄油的SFC分离谱图[22]

色谱柱：200mm×0.25mm(内径)，柱相为氰丙基键合硅胶，5μm

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(385℃)

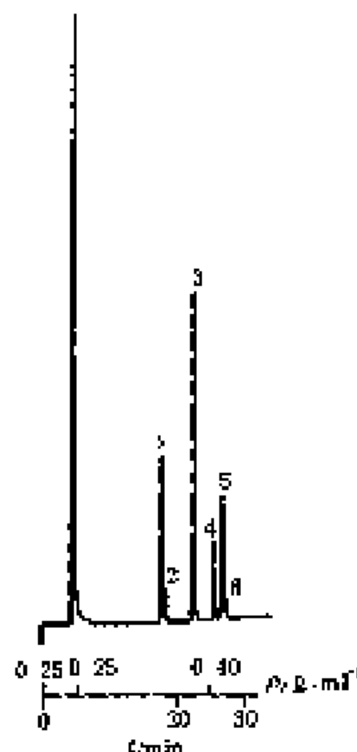


图 14-104　雄甾烷二醇和三醇类化合物分离谱图[15]

色谱峰：1—5β-雄甾烷-3β,17β-二醇；2—5β-雄甾烷-3α,17α-二醇；3—5α-雄甾烷-3α,17α-二醇；4—5β-雄甾烷-3α,11β,17β-三醇；5—5α-雄甾烷-3β,11β,17β-三醇；6—5β-雄甾烷-3α,11α,17β-三醇

色谱柱：6.5 m×50 μm(内径)，50%苯基甲基聚硅氧烷；液膜厚度 0.15 μm

柱　温：120℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(375℃)

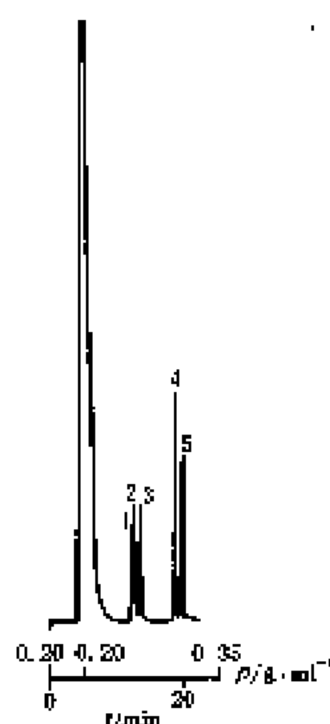


图 14-105 雄甾烷醇同系物的SFC分离谱图[4]

色谱峰:1—5β-雄甾烷-3α-醇;2—5β-雄甾烷-3β-醇;3—5β-雄甾烷-17β-醇;4—5α-雄甾烷-17β-醇;5—5α-雄甾烷-3β-醇

色谱柱:6.5 m×50 μm(内径),50%二苯基聚甲基硅氧烷,液膜厚度为0.15 μm

柱　温:130℃

流动相:CO_2

检测器:火焰离子化(375℃)

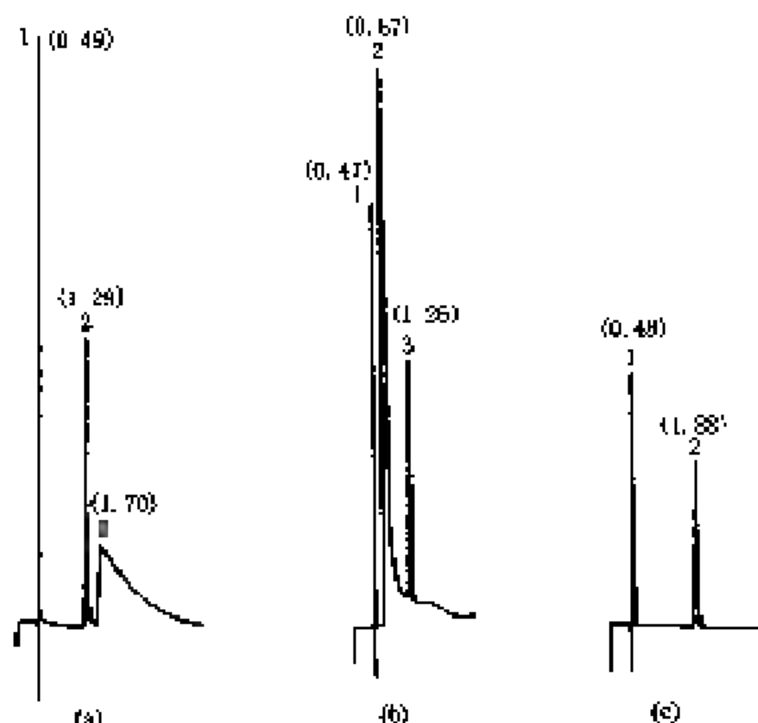


图 14-107 苯和吡啶的SFC分离谱图(一)[4]

色谱峰:1—注射溶剂,CH_2Cl_2;2—苯;3—吡啶

色谱柱:2 mm×150 mm 固定相为氰丙基键合的SiO_2,5μm颗粒(a)30 nm,Δ键,(b)50 nm,Δ键,(c)12 nm,Hypersil

柱　温:35℃

流动相:100%CO_2,等压,16 MPa,700 μm·min⁻¹(液体)

检测器:UV(254 nm)

注:图中括号内数据为流出时间,单位为min。

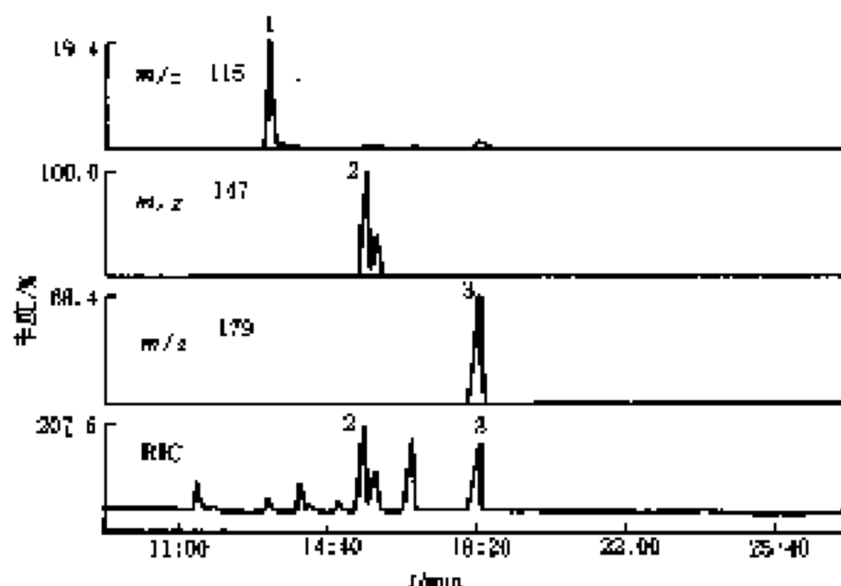


图 14-106 蒜油的SFC分离谱图[24]

色谱峰:1—硫化二烯丙基;2—二硫化二烯丙基;3—三硫化二烯丙基

色谱柱:15 m×0.05 mm(内径),5%苯基,95%甲基聚硅氧烷,液膜厚度为0.25 μm

柱　温:50℃

流动相:CO_2　　　　检测器:质谱仪,RIC

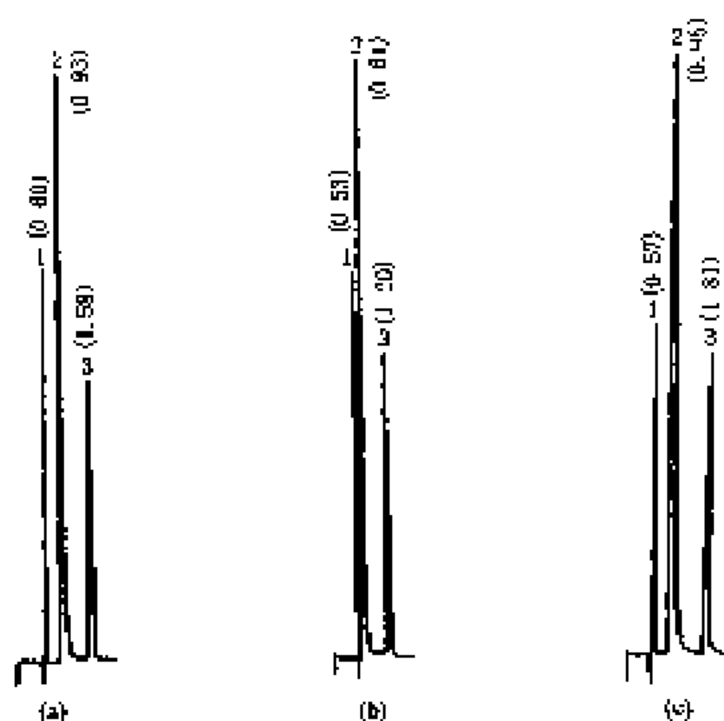


图 14-108　蒽和吡啶的 SFC 分离谱图（二）[illegible]

色谱峰：1—注射溶剂，CH_2Cl_2；2—蒽；3—吡啶

色谱柱：2 mm×150 mm 固定相为氰丙基键合的 SiO_2，5 μm 填料：(a) 30 nm，δ键；(b) 50 nm，δ键；(c) 12 nm，Hypersil

柱　温：75 °C

流动相：CH_3OH/CO_2（体积比＝2∶98）预混合，等压，16 MPa，700 μm·min^{-1}（液体）

检测器：UV(254 nm)

　　注：图中括号内数据为流出时间，单位为 min。

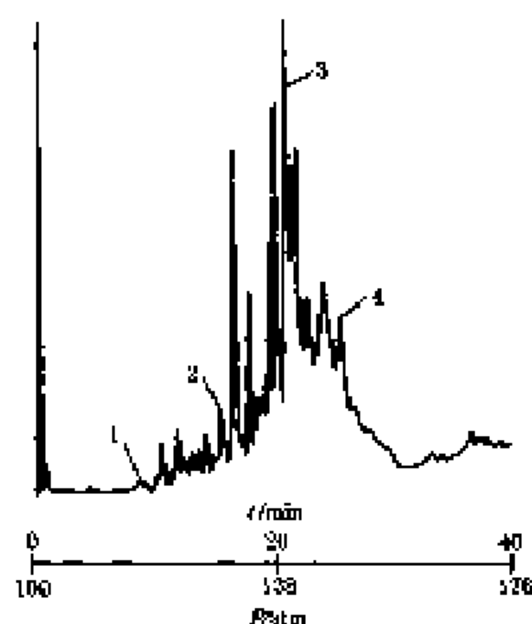


图 14-109　精制煤馏分的 SFC 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—萘；2—芘；3—䓛；4—晕苯

色谱柱：15 cm×0.5 mm（内径），填充大孔二乙烯基苯(0 muPac PRN-300)，5 μm

柱　温：145 °C

流动相：氨

检测器：UV(254 nm)

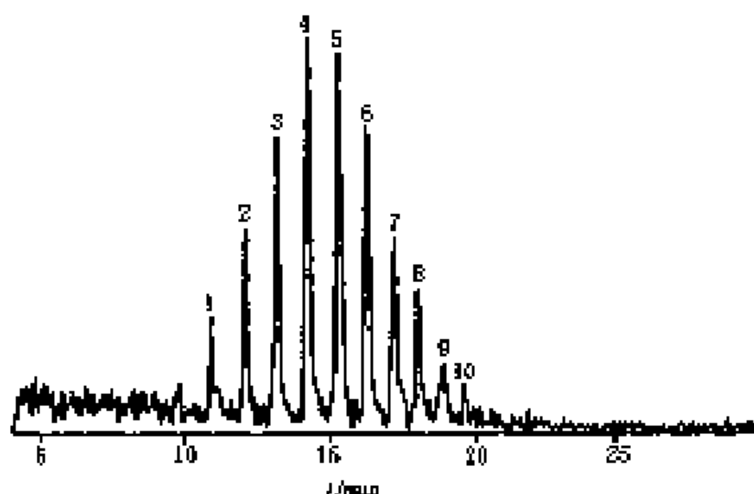


图 14-110　聚乙二醇(600) 的 SFC 分离谱图[31]

色谱峰：（以分子量大小为准）1—634；2—678；3—722；4—766；5—810；6—854；7—898；8—942；9—986；10—1030

色谱柱：10 m×50 μm（内径），5%苯基和 95%甲基聚硅氧烷，液膜厚度为 0.5 μm

柱　温：起始 3 min 125 ℃，然后 2 ℃·min⁻¹增加到 200 ℃

流动相：CO_2

检测器：质谱仪（甲烷化学离子化）

压　力：起始为 80 atm，然后以 30 atm·min⁻¹增加到 170 atm，最后以 10 atm·min⁻¹增加到 400 atm（1 atm=0.101325 MPa）

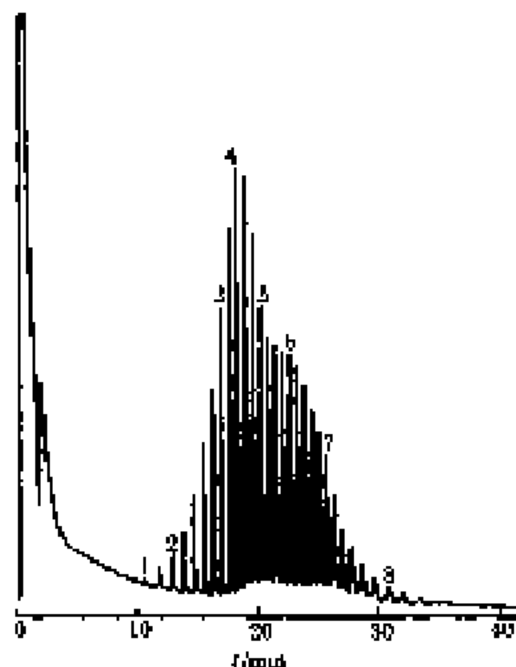


图 14-111　聚乙烯类化合物的 SFC 分离谱图[15]

色谱峰：1—$C_{[illegible]}$；2—$C_{[illegible]}$；3—$C_{[illegible]}$；4—$C_{[illegible]}$；5—$C_{[illegible]}$；6—$C_{[illegible]}$；7—$C_{[illegible]}$；8—C_{55}

色谱柱：10 cm×1.0 mm(内径)，中性铝，5 μm

柱　温：100 ℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(325 ℃)

压　力：100 atm 保持 7 min，然后以 10 atm·min⁻¹增加到 380 atm(1 atm=0.101325 MPa)，最后保持此压力不变

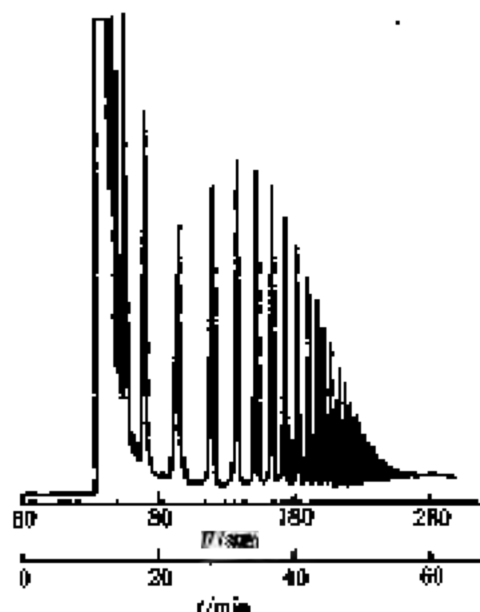


图 14-112　聚二甲基硅氧烷（平均相对分子质量为 400~700）的 SFC 分离谱图[15]

色谱柱：10 m×100 μm，DB-5

流动相：CO_2

检测器：FID

压　力：80 atm $\xrightarrow{4\ atm \cdot min^{-1}}$ 280 atm，20 min 后保持 280 atm（1 atm=0.101325 MPa）

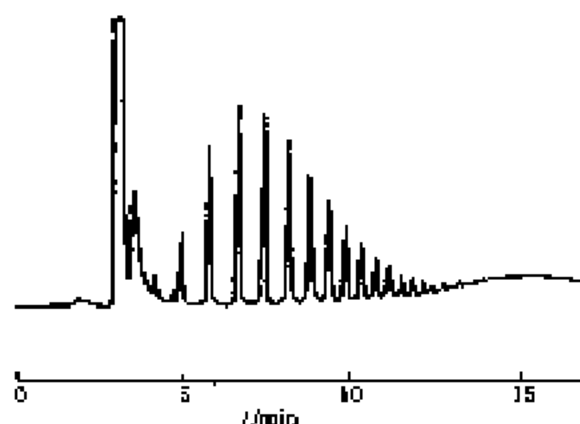


图 14-113　聚二甲基硅氧烷（平均相对分子质量为 770）的 SFC 分离谱图[45]

色谱柱：DB-1

柱　温：100℃

流动相：CO_2

检测器：FID

压　力：13.6 MPa $\xrightarrow{10\ min}$ 27.6 MPa

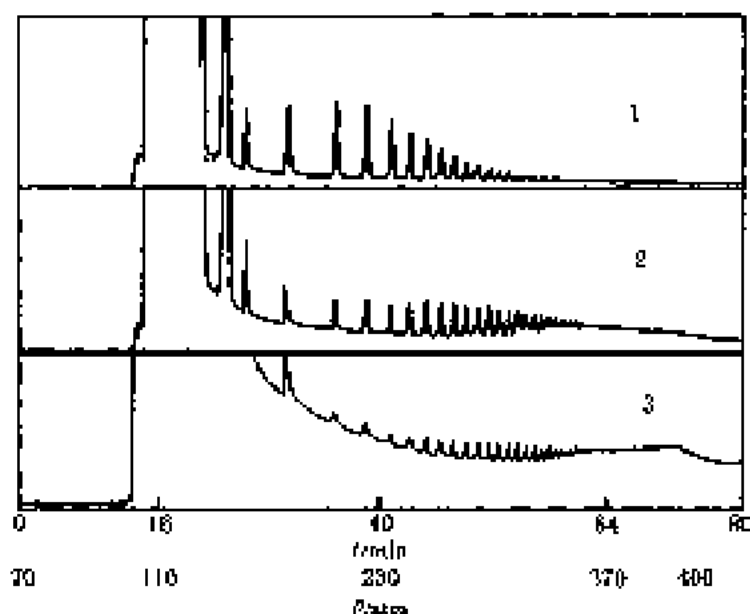


图 14-114　聚丙烯醇标样、叔丁基二甲基硅衍生物的 SFC 分离谱图[46]

色谱峰：1—聚丙烯醇（分子量 900）；2—聚丙烯醇（分子量 2000）；3—聚丙烯醇（分子量 10 000）

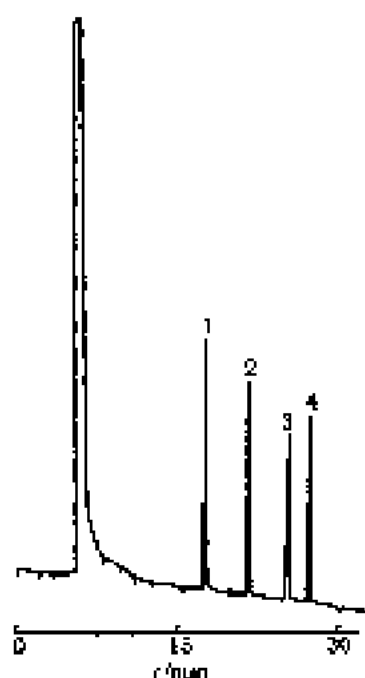
色谱柱：10 m×50 μm（内径），100%甲基聚硅氧烷，液膜厚度 0.20 μm

柱　温：120℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化（400℃）

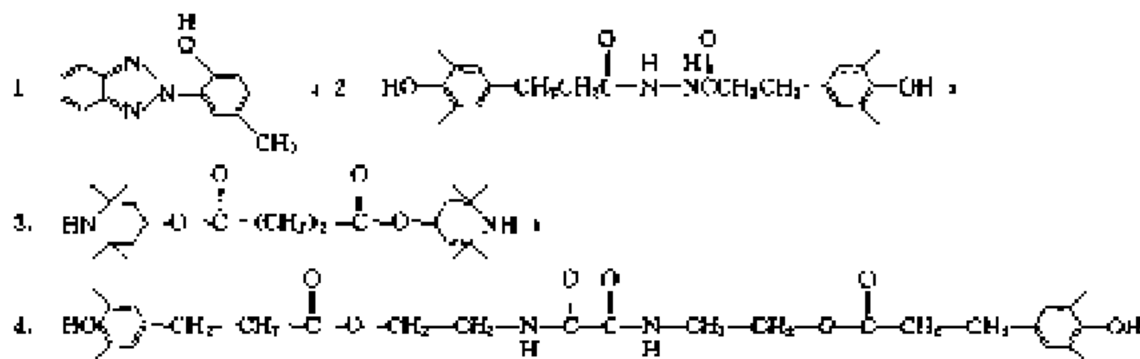
注：1 atm＝0.101325 MPa



色谱柱：20 mm×0.5 μm（内径），填充二甲基硅氧烷
流动相：CO_2
检测器：火焰离子化(350 ℃)
进样量：100 μl

图 14-115　聚合物添加剂的 SFC 分离谱图[1]

色谱峰：1，2（2H-苯并三唑-2-Yl）对甲酚



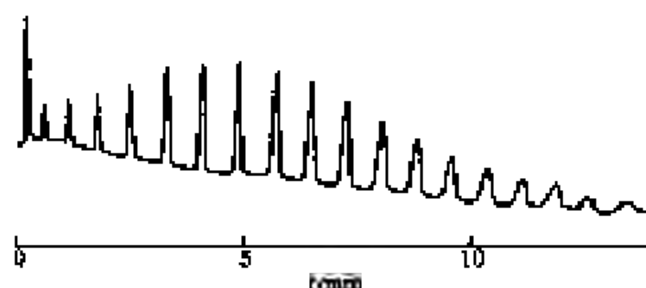


图 14-116　聚苯乙烯 1050 的 SFC 分离谱图[1]

色谱柱：2.0 mm×100 mm 硅胶，3 μm
柱　温：120 ℃
流动相：含 0.1%二氧六环的 CO_2
柱出口压：12.5 MPa $\xrightarrow{18\ min}$ 35.0 MPa
检测器：UV(254 nm)

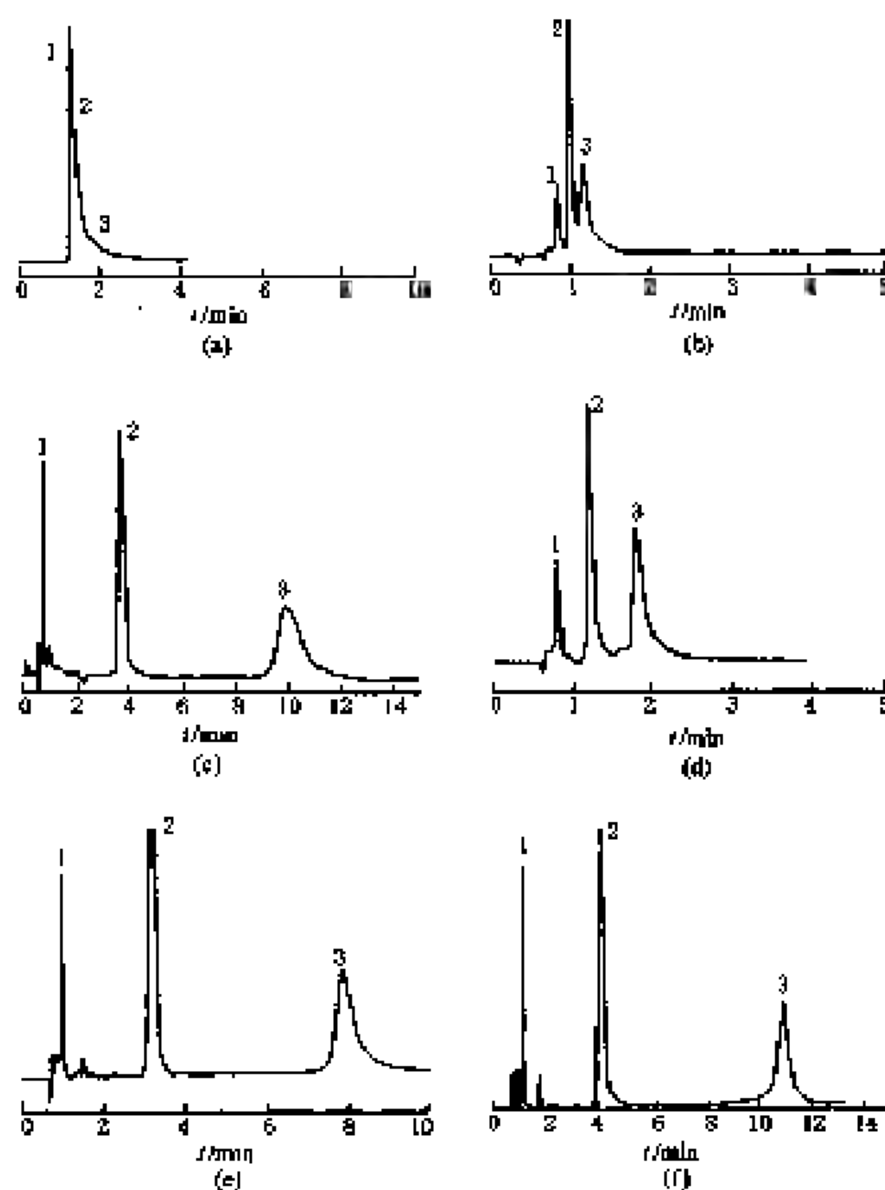


图 14-117 [illegible]碱类化合物的 SFC 分离谱图（一）[illegible]

色谱峰：1—三[illegible]木碱；2—二[illegible]木碱；3—二[illegible]木碱

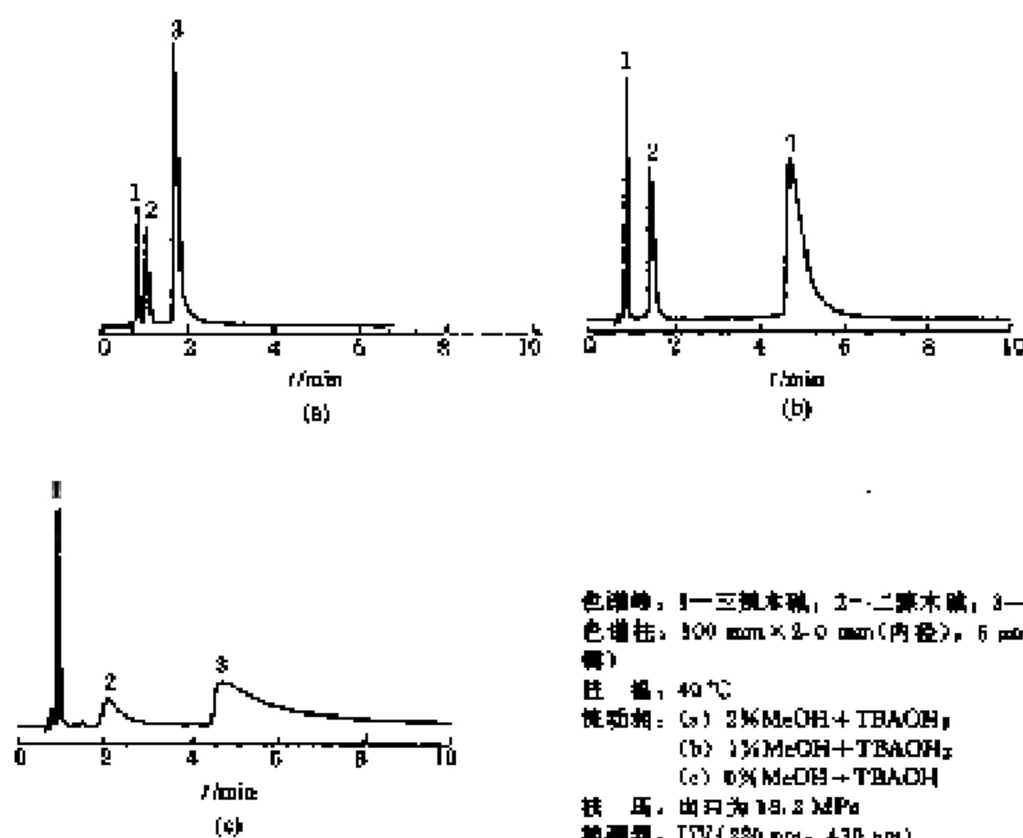
色谱柱：100 mm×2.0 mm(内径)，填充 5 μm (a) Deltabond Octyl；(b) Deltabond CN；(c) Hypersil APS；(d) Hypersil CPS；(e) Nucleosil Diol；(f) Nucleosil SA

柱　温：40℃

流动相：95%超临界 CO_2+5%甲醇，内含 1%异丙胺

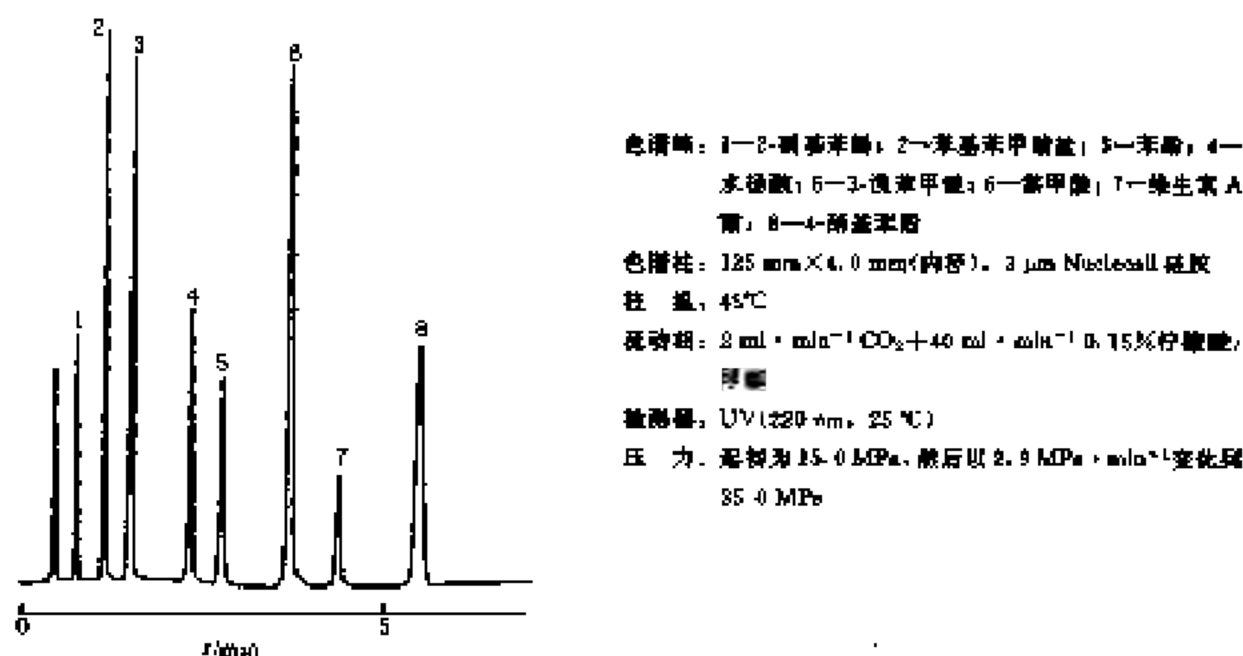
柱　压：出口 18.2 MPa

检测器：UV(220 nm，430 nm)



色谱峰：1—三氯苯醌；2—二苯苯醌；3—羟苯醌
色谱柱：100 mm×2.0 mm(内径)，5 μm 氰丙基硅胶（5 微）
柱　温：40℃
流动相：(a) 2%MeOH+TBAOH；
(b) 1%MeOH+TBAOH；
(c) 0%MeOH+TBAOH
柱　压：出口为 19.2 MPa
检测器：UV(280 nm，430 nm)

图 14-118　蒽醌类化合物的 SFC 分离谱图（二）[64]



色谱峰：1—2-羟基苯酚；2—苯基苯甲酸盐；3—苯酚；4—水杨酸；5—3-羟苯甲酸；6—苯甲酸；7—维生素 A 酸；8—4-羟基苯酚
色谱柱：125 mm×4.0 mm(内径)，3 μm Nucleosil 硅胶
柱　温：45℃
流动相：2 ml·min⁻¹ CO_2+40 μl·min⁻¹ 0.15%柠檬酸/甲醇
检测器：UV(220 nm，25 ℃)
压　力：起初为 15.0 MPa，然后以 2.9 MPa·min⁻¹变化到 35.0 MPa

图 14-119　酸组分的 SFC 分离谱图[40]

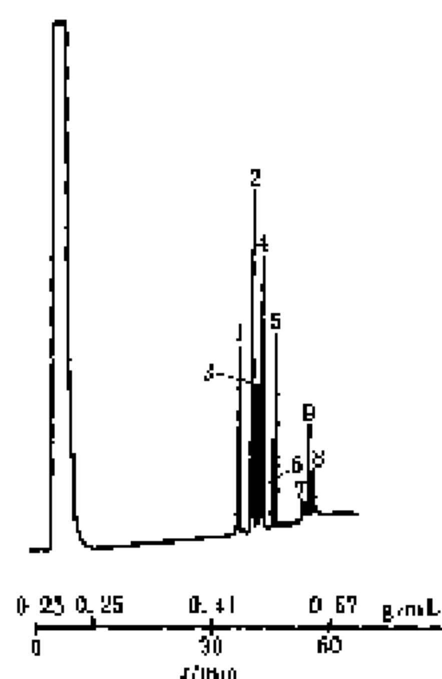


图 14-120　雌性激素的 SFC 分离谱图[94]

色谱峰：1—3，17β-二羟基雌甾烯-1，3，5（10）-三烯；2—3，17α-二羟基雌甾烯-1，3，5（10）-三烯；3—3-羟基-17-含氧雌甾烷-1，3，5（10）三烯；4—3，17β-二羟基雌甾烷-1，3，5（10）-四烯；5—3，17α-二羟基雌甾烷-1，3，5（10）-四烯；6—3-羟基-17-含氧雌甾烷-1，3，5（10）四烯；7—3，17β-二羟基雌甾烷-1，3，5（10）-五烯；8—3，17α-二羟基雌甾烷-1，3，5（10）-五烯；9—3-羟基-17-含氧雌甾烷 1，3，5（10）五烯

色谱柱：8m×50 μm(内径)，50%二苯基羟基联苯液晶状聚硅氧烷；液膜厚度为 0.15 μm

柱　温：120 ℃

流动相：CO_2

检测器：火焰离子化(375 ℃)

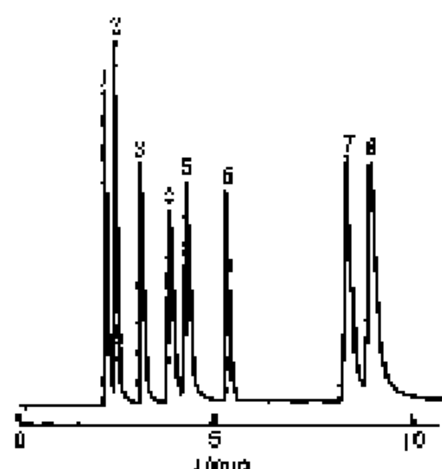


图 14-121　磺胺类化合物的 SFC 分离谱图（一）[94]

色谱峰：1—磺胺多辛(1-SDX)；2—磺胺二甲嘧啶(2-SMT)；3—磺胺甲噻唑(3-SMZ)；4—磺胺地索辛(4-SDM)；5—磺胺嘧啶(5-SDZ)；6—磺胺喹沙啉(6-SQX)；7—磺胺氯达嗪(7-SCP)；8—磺胺噻唑(8-STZ)

色谱柱：100 mm×4.6 mm(内径)，填充 5 μm 氨基键合 Spherisorb

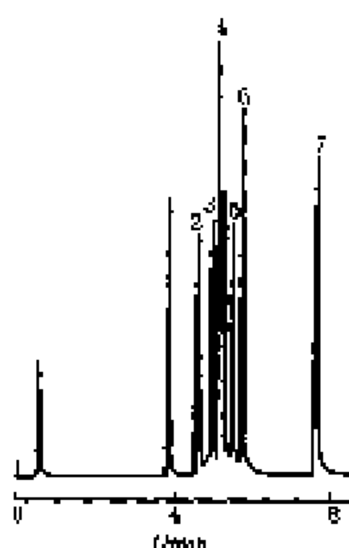
柱　温：90 ℃

流动相：CO_2—15%甲醇，4 min 后变为 25%甲醇

流　速：4 mL·min^{-1}

柱　压：35.1 MPa

检测器：UV(270 nm)



色谱峰：1—磺胺多辛(1-SDX)；2—磺胺地索辛(4-SDM)；3—磺胺氯达嗪(7-SCP)；4—磺胺喹沙啉(6-SQX)；5—磺胺二甲嘧啶(2-SMT)；6—磺胺甲噻唑(3-SMZ)；7—磺胺噻唑(8-STZ)

色谱柱：两根 100 mm×4.6 mm，填充 5 μm Spherisorb

柱　温：75℃

流动相：CO_2+12%甲醇，5 min 后改变为 20%甲醇

流　速：4 mL·min^{-1}

柱　压：28.5 MPa

检测器：UV(254 nm)

图 14-122　磺胺类化合物的 SFC 分离谱图（二）[94]

第二节　薄层色谱谱图

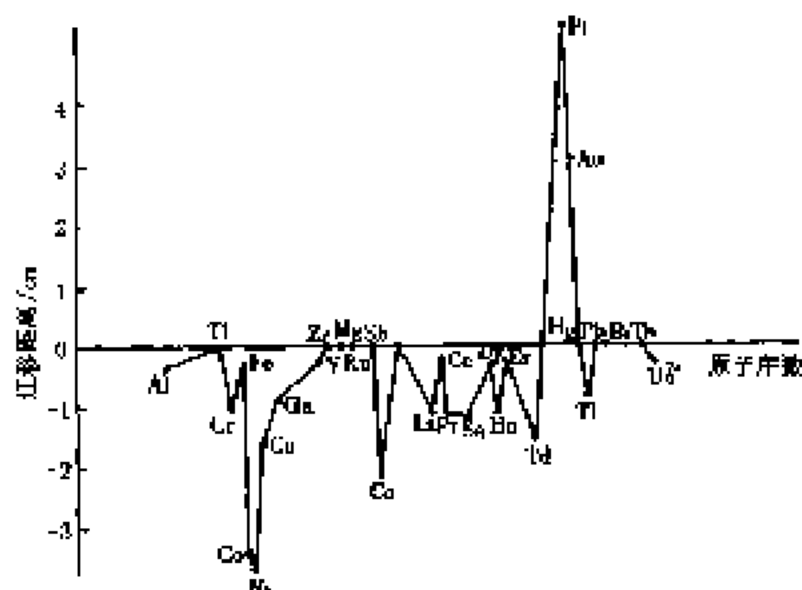


图 14-123　0.01 mol·L⁻¹HCl 介质中离子迁移距离与原子序数关系图[100]
薄层板：冲酸锑离子-硅胶 G
展开剂：0.01 mol·L⁻¹HCl

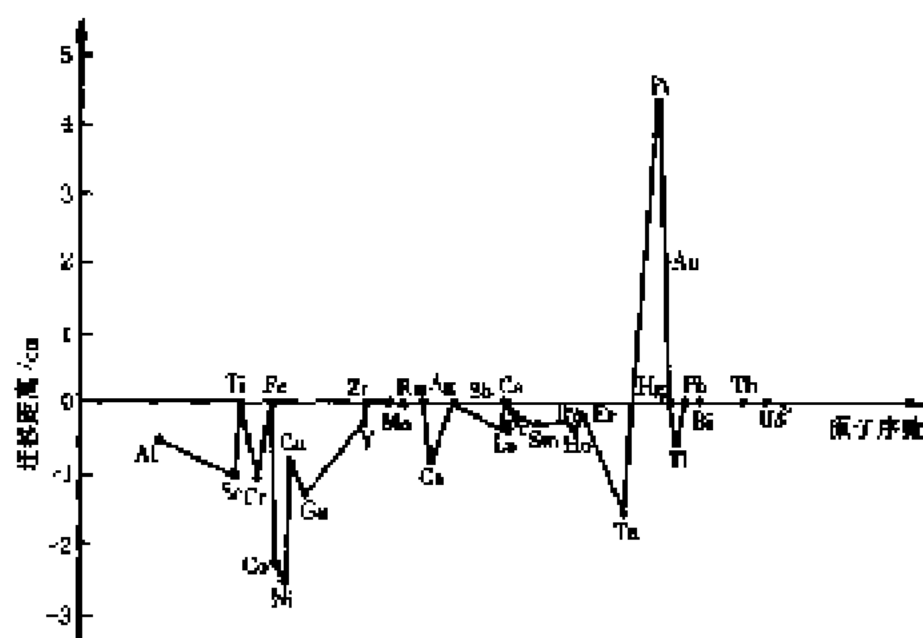


图 14-124　0.1 mol·L⁻¹柠檬酸介质中离子迁移距离与原子序数关系图[100]
薄层板：冲酸锑离子-硅胶 G　　展开剂：0.1 mol·L⁻¹柠檬酸

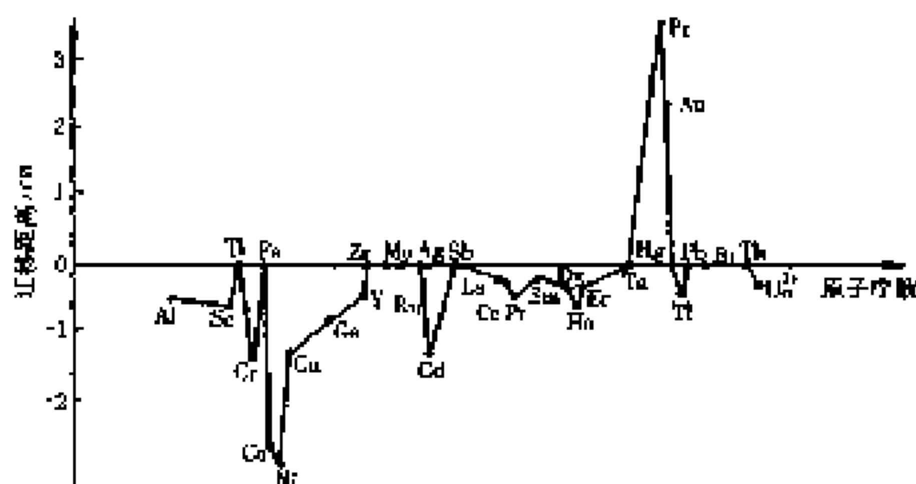


图 14-125 0.10 mol·L^{-1}酒石酸介质中离子迁移距离与原子序数关系图[illegible]

薄层板：锑酸锡离子-硅胶G　　展开剂：0.01 mol·L^{-1}酒石酸

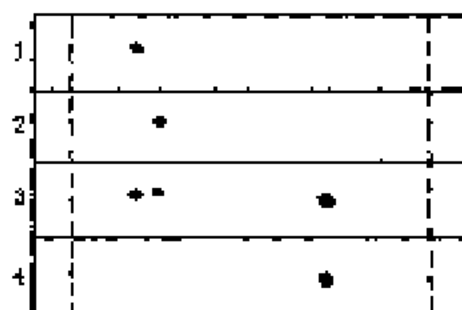


图 14-126 二氯乙酰胺类化合物(R-25788)的TLC图[illegible]

样　品：1、2—二氯乙酰氯和胺类化合物；3—二氯乙酰氯和胺类化合物反应混合物；4—二氯乙酰胺类化合物

薄层板　硅胶G

展开剂：二氯甲烷—甲醇(体积比=[illegible]:1)

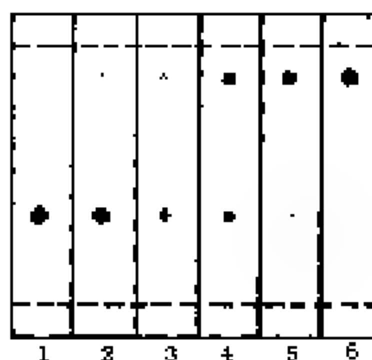


图 14-127 二氯乙酰氯与胺反应进程的TLC图[illegible]

样　品：1—原料；2~6—不同反应时间的产物

薄层板：硅胶G

展开剂：二氯甲烷+甲醇（体积比=10:1）

注：反应为 二氯乙酰氯+胺→二氯乙酰胺+HCl

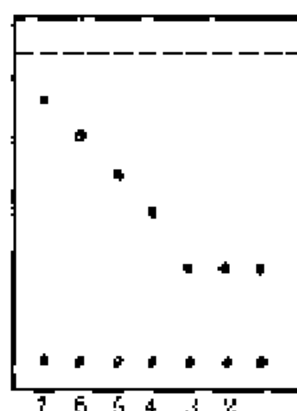
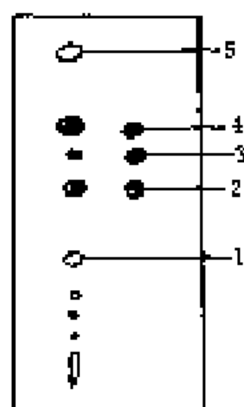


图 14-128 丁胺卡那霉素鉴别的 TLC 图[illegible]

样 品：1—丁胺卡那霉素对照液 R_f=0.30；2—丁胺卡那霉素供试液 R_f=0.30；3—等体积混合液 R_f=0.30；4—卡那霉素 B 对照品液 R_f=0.56；5—硫酸核糖霉素注射液 R_f=0.62；6—新霉素对照液 R_f=0.65；7—硫酸庆大霉素注射液 R_f=0.75

薄层板：硅胶 G

展开剂：氯仿＋甲醇＋氨水＋水（体积比＝1∶4∶2∶1）



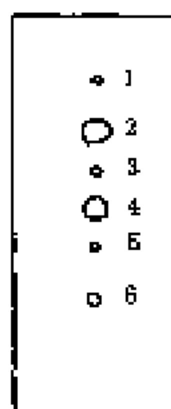
样 品：样品(川白芷饮片用 10 倍量苯冷浸 12 h，上清液点样)；对照品

斑 点：1—氧化前胡内酯（黄绿色荧光）；2—异欧前胡内素（紫色荧光）；3—珊瑚菜素（黄色荧光）；4—欧前胡素（紫色荧光）；5—棕榈酸

薄层板：硅胶 G-CMCNa

展开剂：苯＋乙酸乙酯（体积比＝10∶0.5）

图 14-129 川白芷的 TLC 图[illegible]



斑 点 从前沿开始 6 个斑点的 R_f 值分别为 1—0.90；2—0.73；3—0.63；4—0.53；5—0.41；6—0.27

薄层板：硅胶 G

展开剂 石油醚＋乙酸乙酯(体积比＝2∶1)

注：图中斑点 2 为藁本内酯；斑点 4 为 2 丙叉 1 己酸 3-酮

图 14-130 川芎干馏粗挥发油的 TC 图[illegible]

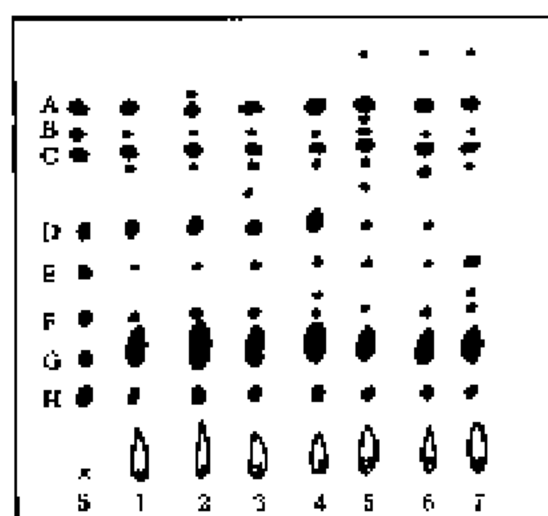


图 14-131 山荷叶中木脂素的 TLC 图

样　品：S—标准混合样；1~7—不同产地山荷叶试样

斑　点：A—鬼臼酮；B—异苦鬼臼酮；C—苦鬼臼酮；D—山荷叶素；E—去氧鬼臼素；F—苦鬼臼素；G—鬼臼毒素；H—4′-去甲基鬼臼毒素

展开剂：二氯甲烷+乙酮（体积比=4∶1）

显色剂：2.5%硫酸铈铵的20%硫酸溶液，氨气熏

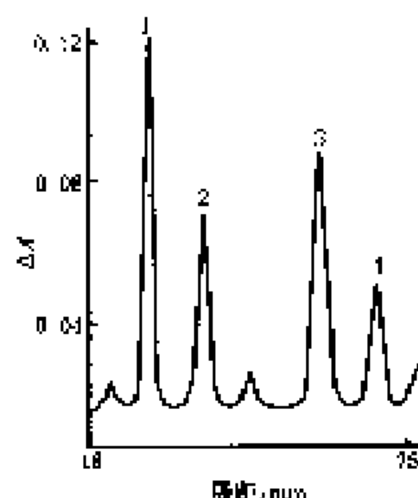


图 14-132 从牛蒡子中提取的木脂素的 TLC 扫描图[38]

色谱峰：1—牛蒡子苷元；2—牛蒡酚 B；3—牛蒡酚 A；4—牛蒡酚 F

薄层板：高效硅胶板

展开剂：二氯甲烷+乙醚+甲醇+己烷（体积比=4∶1∶0.4∶1）

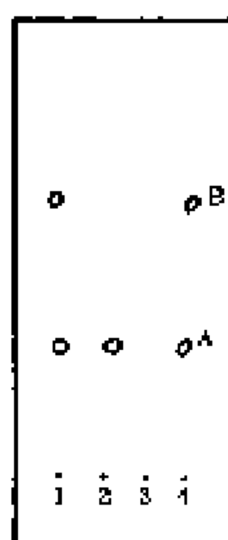


图 14-133 天仙子鉴别的 TLC 图

样　品：1—天仙子；2—中亚天仙子；3—南天仙子；4—对照品

斑　点：A—莨菪碱；B—东莨菪碱

薄层板：硅胶 G

展开剂：乙酸乙酯—甲醇—水（体积比=17∶2∶1）

显色剂：碘化铋钾

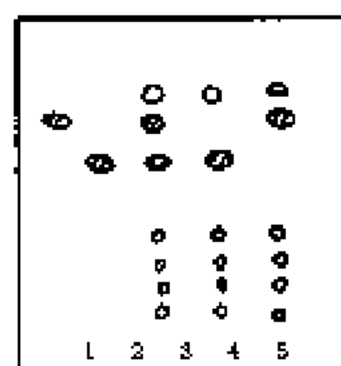


图 14-134 中药徐长卿、丁香的 TLC 图

样　品：1—丹皮酚；2—丁香酚；3—药品；4—缺徐长卿空白对照；5—缺丁香空白对照

薄层板：硅胶 G—0.3%羧甲基纤维素钠

展开剂：环己烷+氯仿+无水乙醇（体积比=7∶3∶1）

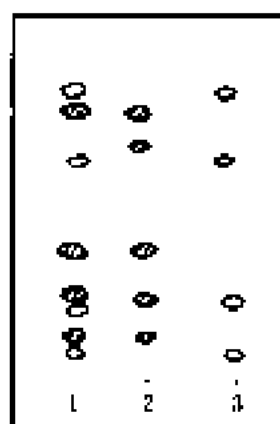


图 14-135 中草药大黄的 TLC 图

样 品：1—药品；2—大黄对照药材；3—缺大黄空白对照

薄层板：硅胶 G+0.3%羧甲基纤维素钠

展开剂：石油醚—甲酸乙酯+甲酸（体积比=15∶5∶2）

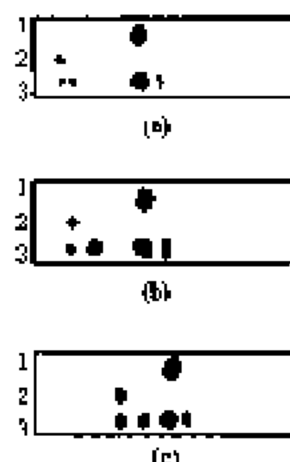


图 14-136 甘草黄酮类单体的 TLC 图

样 品：1—甘草酚；2—甘草酮醇；3—粗品

薄层板：硅胶 G

展开剂：(a) 正己烷+乙酸乙酯（体积比=4∶1）；(b) 石油醚+乙酸乙酯（体积比=2∶1）；(c) 苯—甲醇（体积比=9∶1）

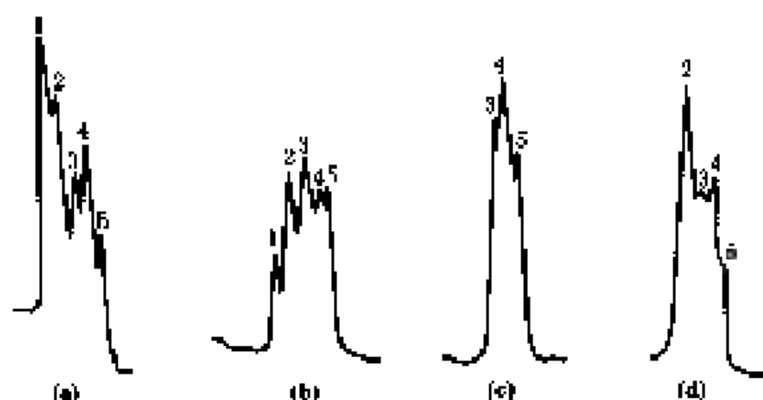


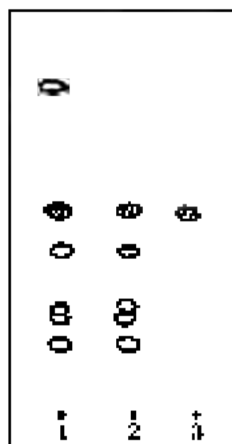
图 14-137 冬眠前后小鼠 LDH 酶谱的变化图

(a) 活动期；(b) 冬眠前；(c) 冬眠期；(d) 冬眠后

色谱峰：峰 1~5 分别代表 LDH_1~LDH_5

薄层板：聚丙烯酰胺凝胶

展开剂：Tris-Gly



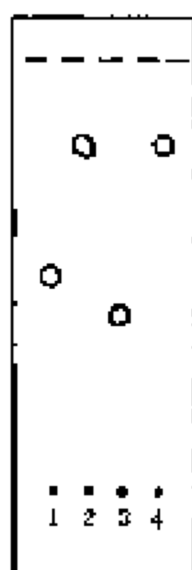
样 品：1—三味丹胶囊；2—北五味子；3—五味子乙素

薄层板：硅胶 GF_{254}+0.5%CMC-Na

展开剂：石油醚+甲酸乙酯+甲酸（体积比=15∶5∶1）

显 色：UV（254nm）

图 14-138 北五味子及其制剂中五味子乙素的 TLC 图



样　品：1—非酯化标准亚油酸（18∶2）R_f＝0.31；2—甲酯化标准亚油酸（18∶2）R_f＝0.56；3—非酯化亚麻子油脂肪酸 R_f＝0.30；4—甲酯化亚麻子油脂肪酸 R_f＝0.55

薄层板：硅胶G

展开剂：石油醚＋乙醚＋乙酸（体积比＝70∶30∶2）

显色剂：碘蒸气

图 14-139　亚麻子油中脂肪酸检测的 TLC 图[119]

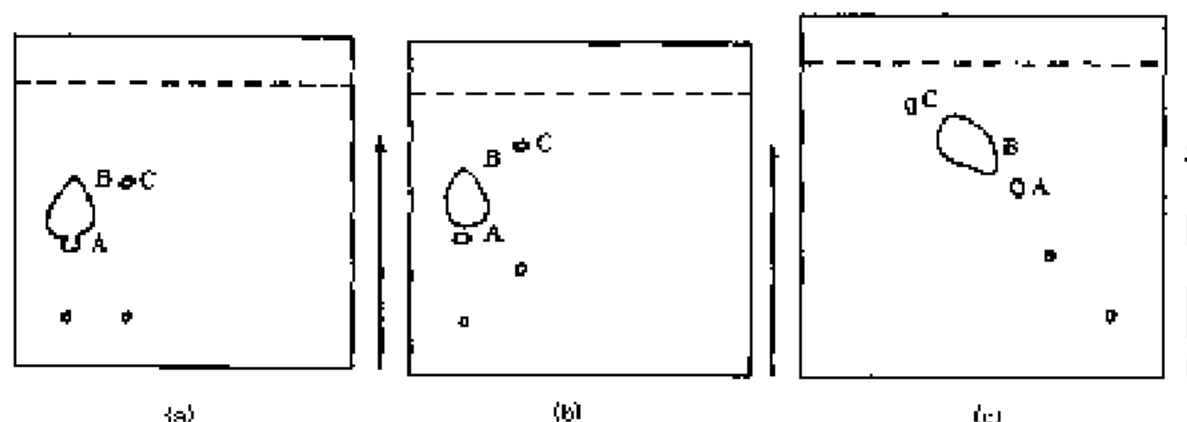


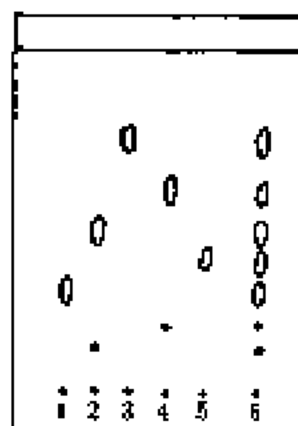
图 14-140　丙硫异烟胺的 TLC 谱图[illegible]

(a) 药典法；(b) 第一次展开；(c) 第二次展开

样　品：A—杂质斑点；B—样品的主斑点；C—样品对照液的主斑点

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：氯仿＋甲醇（体积比＝90∶10）



样　品：1—土霉素（R_f＝0.30）；2—四环素（R_f＝0.48）；3—盐酸多西环素（R_f＝0.74）；4—盐酸金霉素（R_f＝0.60）；5—甲烯土霉素（R_f＝0.41）；6—混合对照品

薄层板：硅藻土 G＋5% EDTA-2Na

展开剂：0.02mol·L^{-1} NaOH 溶液＋丙酮＋乙酸乙酯（体积比＝2∶9∶20）

图 14-141　四环素类抗生素的 TLC 谱图[illegible]

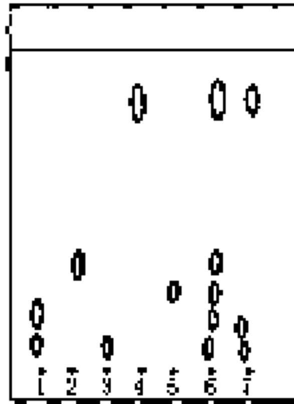


图 14-142 四环素有关物质的 TLC 图[141]

样 品：1—盐酸四环素标准品；2—盐酸金霉素标准品；3—4-差向四环素；4—脱水四环素；5—4-差向脱水四环素；6—标准混合液；7—试样

薄层板：硅胶 G＋硅藻土＋5%乙二胺四乙酸二钠溶液

展开剂：丙酮＋乙酸乙酯＋氨水[142]

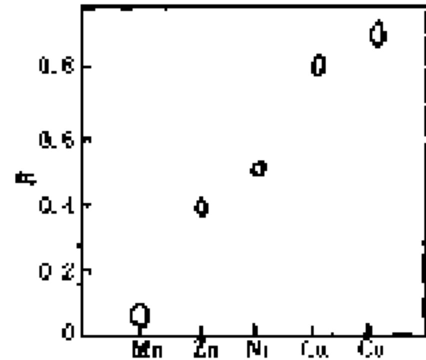


图 14-143 N-邻水杨基亚氨酸与金属配合物的 TLC 图[89]

薄层板：硅胶 G

展开剂：乙酸乙酯＋甲醇＋丙酮＋水（体积比＝4.44：3.33：2.22：0.5）10 mL 展开剂中含 0.12 mL 36%乙酸

注：图中数据为 3 次实验平均值，绝对误差为±0.03，展开距离 10 cm

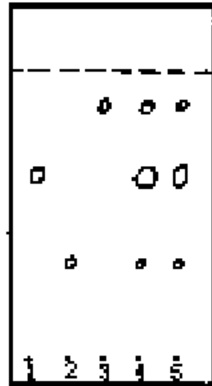


图 14-144 扑尔敏、咖啡因等样品的 TLC 图[72]

样 品：1—对乙酰氨基酚对照品；2—扑尔敏对照品；3—咖啡因对照品；4—混合对照品；5—供试品

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：氯仿＋甲醇＋丙酮＋氨水

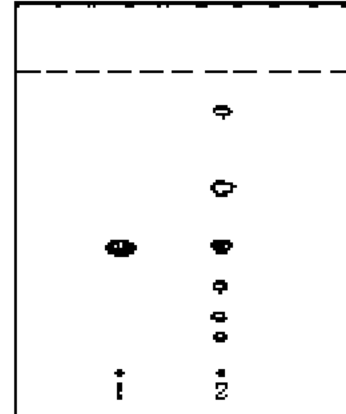


图 14-145 肉桂中肉桂酸测定的 TLC 图[144]

样 品：1—肉桂酸对照品；2—肉桂

薄层板：硅胶 GF_{254}＋0.3% CMC-Na

展开剂：石油醚：甲酸乙酯：甲酸（体积比＝15：5：1）

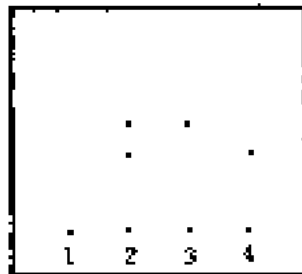


图 14-146 血中胺碘酮及氯安定的 TLC 图[94]

样 品：1—空白血清；2—血中加入胺碘酮及氯安定；3—胺碘酮标准品；4—氯安定标准品

薄层板：硅胶 $60F_{254}$

展开剂：乙酸乙酯＋氯仿＋丙酮＋氨水（体积比＝4：1：1：0.2）

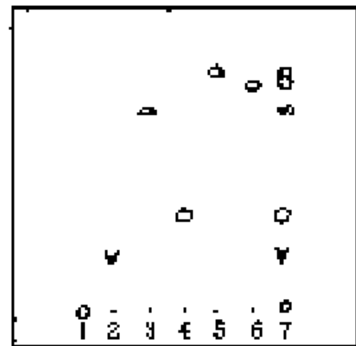


图 14-147 过渡金属离子的 TLC 图（一）[165]

样 品：1—Fe^{3+}，2—Co^{2+}，3—Ni^{2+}，4—Cu^{2+}，5—Fe^{2+}，6—络合剂，7—混合样品

展开剂：甲醇＋氯仿＋乙酰丙酮（体积比＝1：10：0.005）

薄层板：硅胶 G

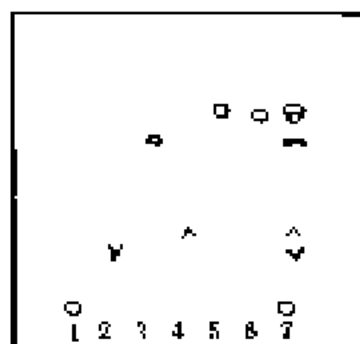


图 14-148 过渡金属离子的 TLC 图（二）[115]

样　品：1—Fe^{3+}；2—Co^{2+}；3—Ni^{2+}；4—Cu^{2+}；5—Fe^{2+}；6—络合剂；7—混合物样品

薄层板：硅胶 G

展开剂：甲醇＋氯仿（体积比＝1∶10）

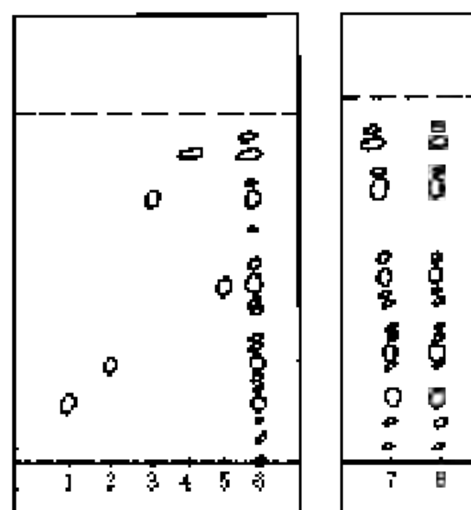


图 14-149 阿片生物碱的 TLC 图[158]

样　品：1—吗啡；2—可待因；3—罂粟碱；4—那可丁；5—蒂巴因；6—阿片膏；7—阿片酊；8—阿片粉

薄层板：硅胶 G

展开剂：苯＋丙酮＋甲醇＋水（体积比＝8∶4∶0.6∶0.25）

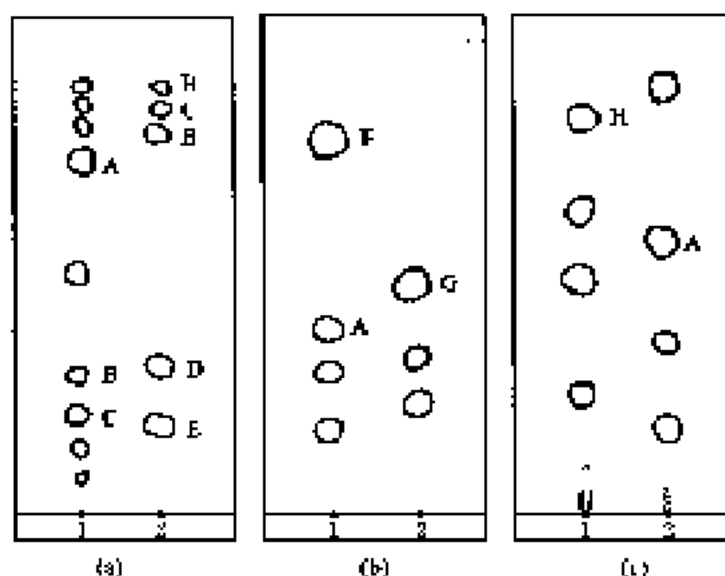


图 14-150 花椒及巴氏吴茱萸的 TLC 图[127]

样　品：1—巴氏吴茱萸；2—花椒

斑　点：A—蓝；B—红；C—橙黄；D—玫瑰红；E—粉红；F—紫红；G—蓝紫；H—淡蓝

薄层板：硅胶 G

展开剂：(a) 氯仿＋乙酸乙酯（体积比＝8∶2）；(b)、(c) 石油醚－乙酸乙酯（体积比＝9∶1）

显色剂：(a) UV (365nm)；(b) 5% 香草醛浓硫酸；(c) 5% 磷钼酸乙醇溶液

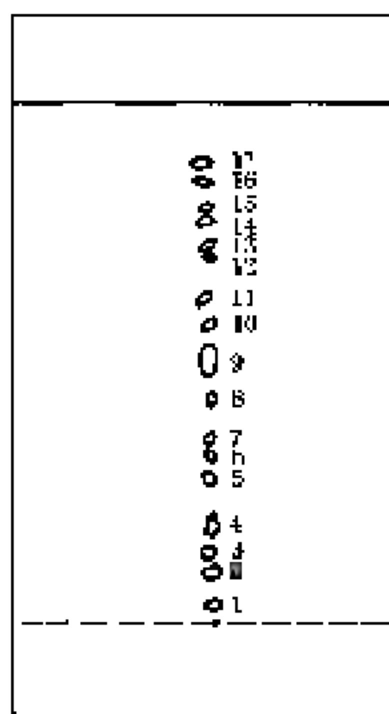


图 14-151 利福平胶囊的 TLC 图[115]

样 品：利福平胶囊

斑 点：1—浅棕色；2~5—黄色；6—粉红色；7—浅粉；8—黄色；9—橙红色（主斑点）；10~14—黄；15—紫色；16—黄色；17—浅紫色

薄层板：硅胶 H+5% Na_2HPO_4

展开剂：氯仿+甲醇+水（体积比=90∶10∶1）

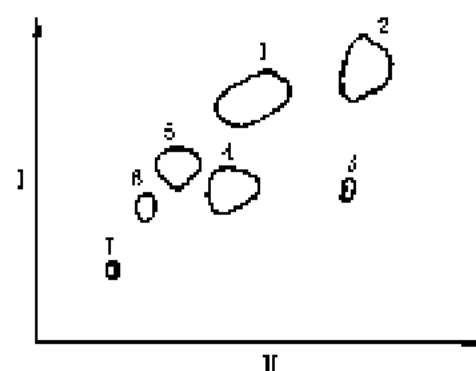


图 14-152 红细胞膜类脂的双向 TLC 图[116]

斑 点：1—PC；2—PE；3—鞘磷脂；4—磷脂酰丝氨酸；5—神经鞘糖脂；6—红细胞糖苷脂；7—上样点

薄层板：硅胶 G

展开剂：Ⅰ 氯仿+甲醇+氨水+水（体积比=90∶26∶15∶3）

Ⅱ 氯仿+甲醇+丙酮+乙酸+水（体积比=18∶20∶4∶5∶0.4）



图 14-153 苏合香的 TLC 图[117]

样 品：1—苏合香；2—桂皮酸对照品

薄层板：0.5%CMC-Na 硅胶 GF_{254}

展开剂：石油醚+丙酮+冰乙酸（体积比=10∶5∶0.02）

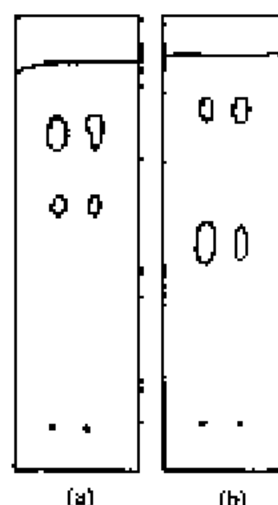


图 14-154 两种手性药物的 TLC 图[118]

样 品：(a) 拉贝乐尔；(b) 倍他乐克

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：二氯甲烷+甲醇（体积比=67∶33），含 D-10-樟脑磺酸钠 6.8 mmol·L^{-1}

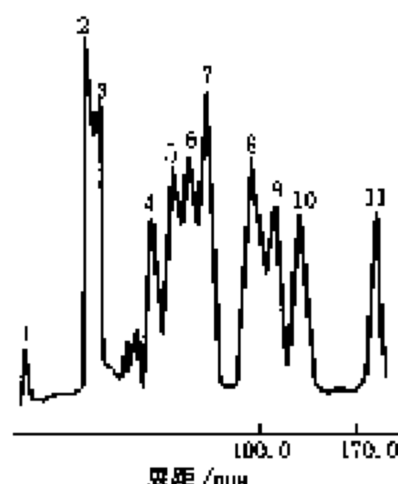


图 14-155 肾上腺皮质激素类的 TLC 图[14]

样　品：1—注射溶剂；2—氢化泼尼松；3—氢化可的松；4—醋酸氢化泼尼松；5—醋酸氢化可的松；6—醋酸泼尼松；7—醋酸可的松；8—氟氢松、醋酸曲安缩松；9—醋酸肤轻松；10—丙酸倍氯米松

薄层板：硅胶 GF_{254}+0.5%CMC（5g+15 mL）

展开剂：1，2-二氯乙烷+苯+甲醇+水（体积比=4.81：4.43：0.76：0.0001）

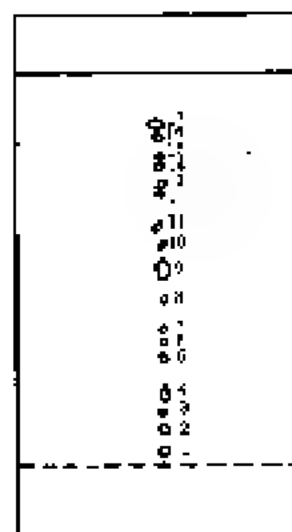


图 14-156 利福平胶囊的 TLC 图[14]

斑　点：1—橙棕色；2～5—黄色；6—粉红色；7—浅粉色；8—黄色；9—橙红色（主斑点）；10～14—黄色；15—紫色；16—黄色；17—浅紫色

薄层板：硅胶 H 加 5%磷酸氢二钠

展开剂：氯仿+甲醇+水（体积比=90：10：1）

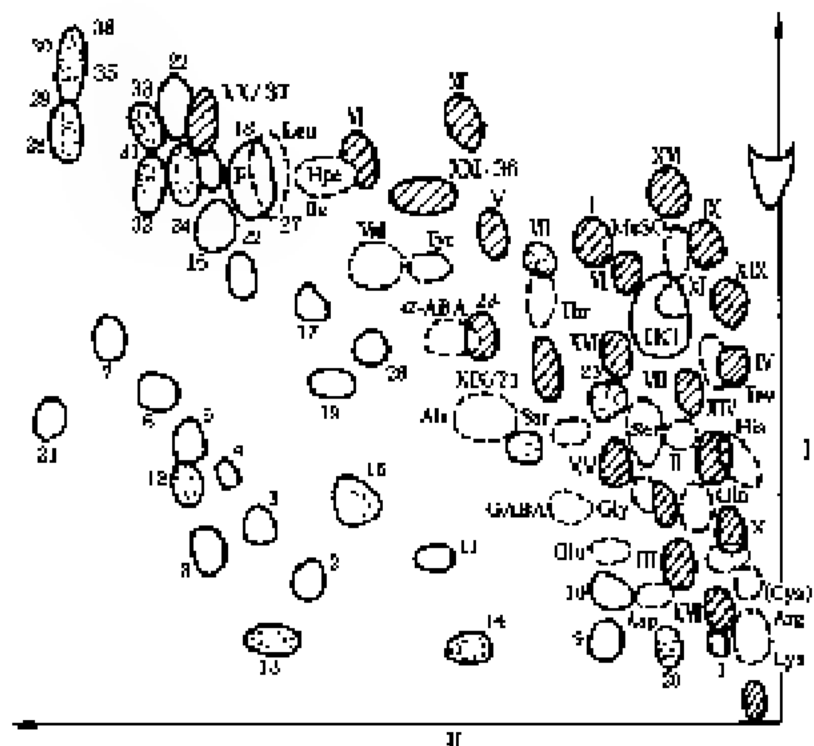


图 14-157 有机酸混合物标准液的 2D TLC 图[22]

嘌呤碱 核苷类(UV吸收)；○/○ 有机酸斑点，其中有紫外吸收；○ 氨基酸斑点

斑　点：1—草酸；2—丙二酸；3—琥珀酸；4—戊二酸；5—己二酸；6—庚二酸；7—辛二酸；8—甲基丙二酸；9—柠檬酸；10—酒石酸；11—苹果酸；12—延胡索酸；13—乌头酸；14—α-酮戊二酸；15—丙酮酸；16—乳酸；17—乙酰甘氨酸；18—丙酰甘氨酸；19—乙醇酸；20—乙醛酸；21—[illegible]；22—β-羟丁酸；23—尿刊酸；24—乳清酸；25—抗坏血酸；26—高香草酸；27—犬尿酸；28—苯甲酸；29—苯乙酸；30—[illegible]；31—β-苯乳酸；32—对-羟基苯乙酸；33—苯丙酮酸；34—[illegible]；35—吲哚丁酸；36—尼克酸；37—马尿酸；38—山梨酸

薄层板：微晶纤维素—硅胶 G 混合型

展开剂：（Ⅰ）叔丁醇+乙醇+氨水+水（体积比=10：12：2：6）
（Ⅱ）异戊醇+石油醚+乙醚+甲酸+丙酮+水（体积比=9：14：6：5：0.6：0.6）

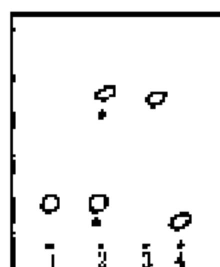


图 14-158　依托泊苷原料药的 TLC 图[1]
样　品：1—依托泊苷；2—依托泊苷原料药；3～4—α-反依托泊苷；4—2β-苷依托泊苷
薄层板：硅胶 GF_{254}
展开剂：二氯甲烷＋乙醚＋甲醇（体积比＝10：12：0.5）

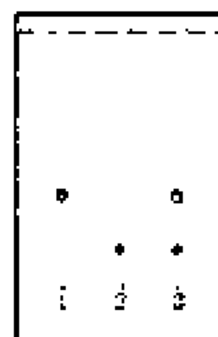


图 14-159　果糖二磷酸钠与游离磷酸盐的 TCL 图[19]
样　品：1—游离磷酸盐；2—果糖二磷酸钠；3—1、2 的混合物
薄层板：微晶纤维素
展开剂：正丁醇＋丙酮＋冰乙酸＋10%氨水＋水（体积比＝35：15：20：7.5：22.5）

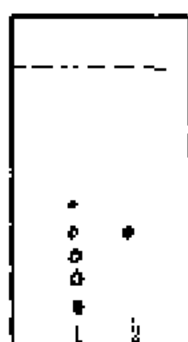
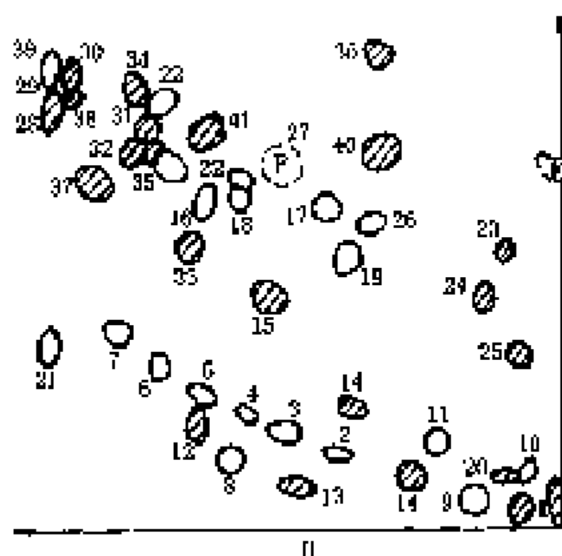


图 14-160　金水宝胶囊的 TLC 图[18]
样　品：1—金水宝胶囊；2—腺嘌呤
固定相：硅胶 GF_{254}
展开剂：氯仿－乙酸乙酯＋异丙醇＋水－氨水（体积比＝11：2：6：0.5：0.12）



图 14-161　金银花的 TLC 图[20]
样　品：1—绿原酸对照品；2—供试品；3—缺金银花空白对照品
薄层板：聚酰胺
展开剂：醋酸乙酯＋丁酮＋甲酸＋水（体积比＝6：6：1：1）



斑　点：1—草酸；2—丙二酸；3—琥珀酸；4—戊二酸；5—己二酸；6—庚二酸；7—辛二酸；8—甲基丙二酸；9—柠檬酸；10—酒石酸；11—苹果酸；12—延胡索酸；13—乌头酸；14—α-酮戊二酸；15—丙酮酸；16—乳酸；17—乙酰甘氨酸；18—丙酰甘氨酸；19—乙醇酸；20—乙醛酸；21—衣康酸；22—β-羟丁酸；23—尿刊酸；24—乳清酸；25—抗坏血酸；26—高香草酸；27—犬尿酸；28—苯甲酸；29—苯乙酸；30—桂皮酸；31—β-苯乳酸；32—对羟基苯乙酸；33—对羟基苯甲酸；34—苯丙酮酸；35—香草杏仁酸；36—香草酸；37—吲哚乙酸；38—吲哚丁酸；39—山梨酸；40—尼克酸；41—马尿酸
薄层板：微晶纤维硅胶G
展开剂：（Ⅰ）叔丁醇＋乙醇＋氨水＋水（体积比＝40：12：2：6）
（Ⅱ）异戊醇＋石油醚＋乙醇＋甲酸＋丙酮＋水（体积比＝9：20：5：4：0.6：0.6）
注：阴影者为紫外吸收斑，吸收 254 nm 紫外光，P 为荧光点

图 14-162　非挥发性有机酸标准液的 2D-TLC 图[19]

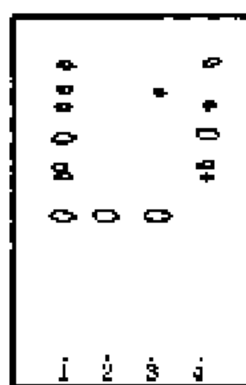


图 14-163 复方蒿甲醚的 TLC 图

样　品：1—对照品；2—供试品；3—阴性供试品

薄层板：硅胶 G

展开剂：环己烷+乙酸乙酯+冰乙酸（体积比=20:10:1）



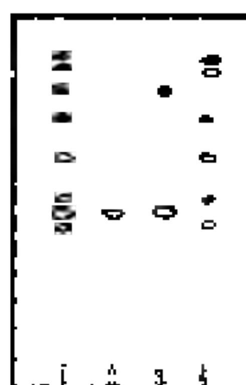
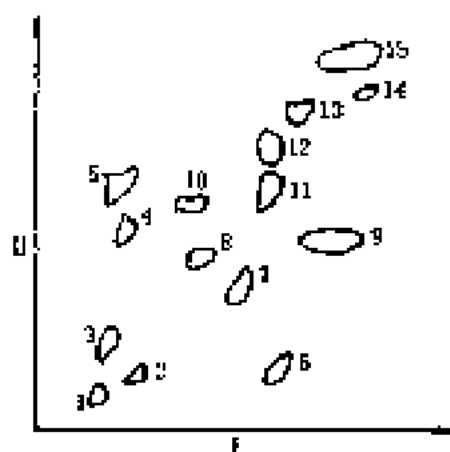


图 14-164 复方升白灵中黄芪甲苷的 TLC 图

样　品：1—复方升白灵；2—黄芪甲苷对照品；3—黄芪；4—不含黄芪甲苷的样品

固定相：硅胶 G+水（1+4）

展开剂：(a) 氯仿+甲醇+水（体积比=65:35:10）；
(b) 氯仿+甲醇+水（体积比=30:1:2）



斑　点：1—鸟氨酸（Orn）；2—赖氨酸（Lys）；3—精氨酸（Arg）；4—天冬氨酸（Asp）；5—谷氨酸（Glu）；6—组氨酸（His）；7—丝氨酸（Ser）；8—甘氨酸（Gly）；9—苏氨酸（Thr）；10—脯氨酸（Pro）；11—丙氨酸（Ala）；12—酪氨酸（Tyr）；13—缬氨酸（Val）；14—苯丙氨酸（Phe）；15—异亮氨酸（Ile）

仪　器：75-Ⅱ薄层色谱仪

展开剂：Ⅰ 异丙醇+乙酸乙酯+丙酮+甲醇+异戊醇+氨水+水（体积比=9:3:3:1:1:3:3）
Ⅱ 正丁醇+丙酮+异丙醇+甲酸+水（体积比=9:4:4:1.5:3）；双向展开

薄层板：硅胶 G

图 14-165 羚牛角水解物的 TLC 图[10]

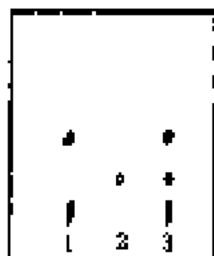


图 14-166 栀子苷的 TLC 图

样　品：1—阴性供试液；2—栀子苷对照品溶液（R_f=0.45）；3—供试液

薄层板：硅胶 GF_{254}+0.1% CMC-Na（体积比=3:10）

展开剂：氯仿+甲醇+浓氨水（体积比=40:10:1）

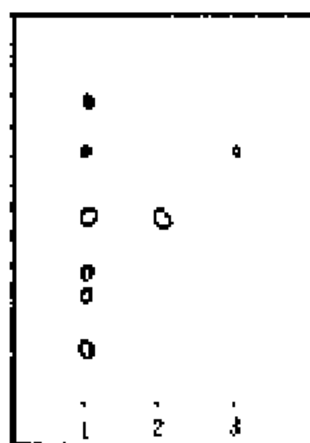


图 14-167 骨刺宁胶囊的 TLC 图

样　品：1—骨刺宁胶囊供试品；2—人参皂苷 R_{g1} 对照品；3—空白样品（缺三七）

固定相：硅胶 G

展开剂：氯仿+醋酸乙酯+甲醇+水（体积比=15:40:22:10）

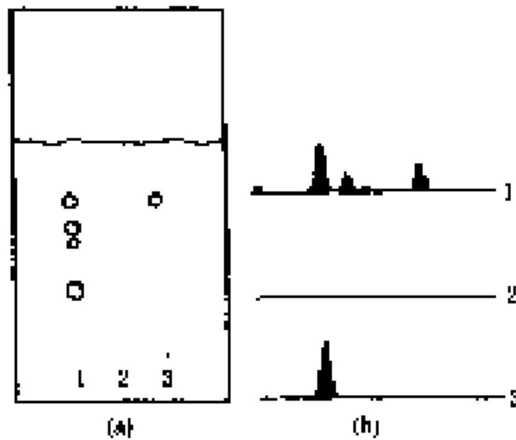


图 14-169 骨刺宁的TLC图 (a) 与 TLC扫描图 (b)[8]

样 品：1—骨刺宁样品；2—空白样品（去三七）；3—人参皂甙R_{g1}对照品

薄层板：硅胶G-0.3% CMC-Na

展开剂：正丁醇-乙酸乙酯+水（体积比=4:1:5）

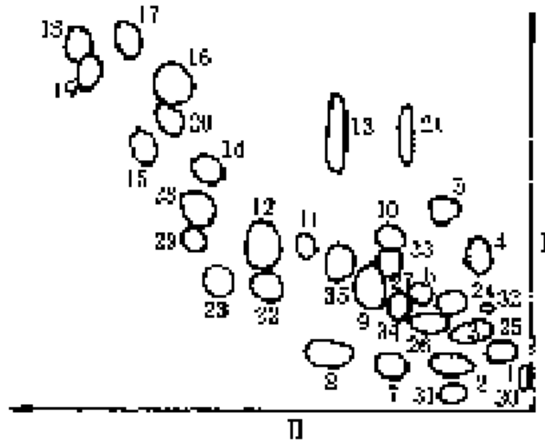


图 14-169 氨基酸标准液的2D TLC图[9]

斑 点：1—胱氨酸；2—精氨酸；3—赖氨酸；4—组氨酸；5—牛磺酸；6—谷酰胺；7—门冬氨酸；8—谷氨酸；9—丝氨酸；10—甘氨酸；11—苏氨酸；12—丙氨酸；13—酪氨酸；14—脯氨酸；15—缬氨酸；16—色氨酸；17—苯丙氨酸；18—亮氨酸；19—异亮氨酸；20—甲硫氨酸；21—甲硫氨酸砜；22—β-丙氨酸；23—γ-氨基丁酸；24—门冬酰胺；25—鸟氨酸；26—同型胱氨酸；27—羟脯氨酸；28—α-氨基丁酸；29—β-氨基异丁酸；30—胱硫醚；31—精氨酸琥珀酸；32—磺基丙氨酸；33—肌氨酸；34—瓜氨酸；35—同型瓜氨酸

展开剂：第一维（Ⅰ）叔丁醇+乙醇+氨水+水（体积比=10:12:2:6）

第二维（Ⅱ）异戊醇+石油醚+乙醇+甲醛+丙酮+水（体积比=9:20:5:4:0.6:0.6）

薄层板：[illegible]



图 14-170 4种β-内酰胺类抗生素的TLC图[7]

样 品：1—头孢拉定；2—头孢唑啉；3—氨苄西林；4—青霉素；5—对照品混合液；6—供试品混合液

薄层板：硅胶G：5% NaH_2PO_4+0.1%乙二胺四乙酸二钠（体积比=1:3）

展开剂：乙酸丁酯+冰乙酸+5%磷酸二氢钠与0.1%乙二胺四乙酸二钠+正丁醇（体积比=50:40:10:5）

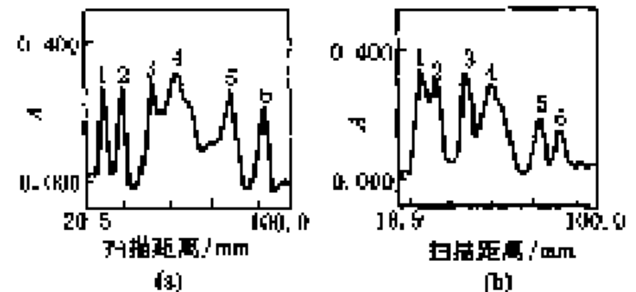


图 14-171 6种青霉素类药物的TLC图[10]

色谱峰：1—羧苄青霉素钠；2—氨苄青霉素钠；3—氯唑青霉素钠；4—磺苄青霉素钠；5—青霉素钠；6—苯唑青霉素钠

薄层板：硅胶GF_{254}+0.5 CMC-Na（1+3）

展开剂：(a) 氯仿+丙酮+乙醇+甲酸（体积比=0.64:0.09:0.16:0.11）

(b) 氯仿+丙酮+乙醇+甲酸（体积比=0.58:0.25:0.09:0.10）

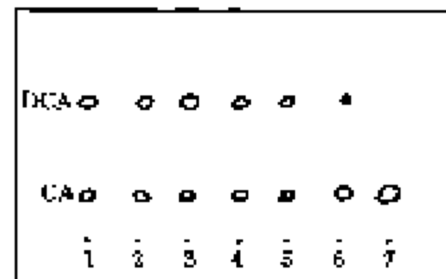


图 14-172 6种胆盐解离胆汁酸的TLC图[11]

样 品：1—对照品；2—OXOID BILE SALT No.3；3—DIFCO BILE SATL No 3；4—生物7号胆盐；5—海拉尔7号胆盐；6—武汉胆盐900116批；7—武汉胆盐891220批

斑 点：CA—胆酸；DCA—去氧胆酸

薄层板：硅胶G

展开剂：异辛烷+乙酸丁酯+冰乙酸（体积比=4:3:2）

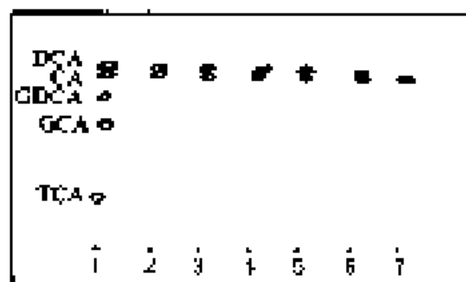


图 14-173　6 种胆盐结合胆汁酸的 TLC 图[117]

样　品：1—对照品；2—OXOID BILE SALT No.3；3—DIFCO BILE SALT No.3；4—生化 7 号胆盐；5—哈拉尔 7 号胆盐；6—武汉胆盐 900115 批；7—武汉胆盐 891220 批

斑　点：CA—胆酸；DCA—去氧胆酸；TCA—牛磺胆酸；GCA—甘氨胆酸；GDCA—甘氨去氧胆酸

薄层板：硅胶 G

展开剂：异戊醇＋冰乙酸＋水（体积比＝18∶3∶3）

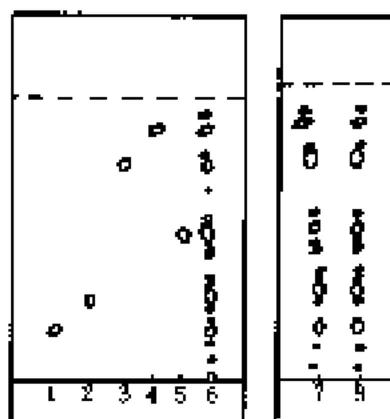


图 14-174　8 种药物的 TLC 图[114]

样　品：1—吗啡；2—可待因；3—罂粟碱；4—那可丁；5—蒂巴因；6—阿片膏；7—阿片酊；8—阿片粉

薄层板：硅胶 G

展开剂：苯—丙酮＋甲醇＋氨水（体积比＝18∶4∶0.6∶0.35）

注：那可丁 R_f＝0.83；罂粟碱 R_f＝0.72；蒂巴因 R_f＝0.51；可待因 R_f＝0.27；吗啡 R_f＝0.17。

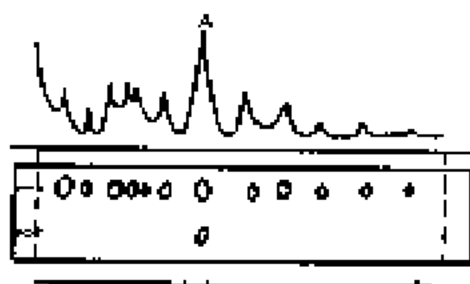


图 14-175　益寿永真口服液 TLC 及 TLCS 图[108]

样　品：1—供试品；2—人参皂苷 R_{g1} 对照品

色谱峰：A—人参皂苷 R_{g1}

固定相：硅胶 G

展开剂：氯仿＋甲醇—水（体积比＝65∶35∶10）

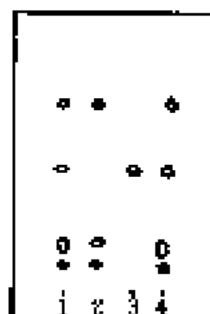


图 14-176　通尿灵口服液中原儿茶醛的 TLC 图[67]

样　品：1—供试液；2—丹参空白对照液；3—原儿茶醛对照液；4—供试液

固定相：硅胶 G

展开剂：氯仿＋丙酮＋甲酸（体积比＝8∶1∶1）

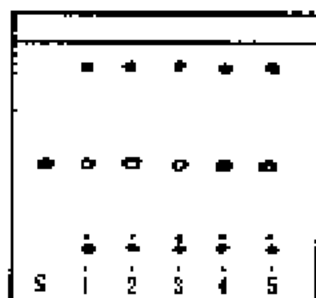
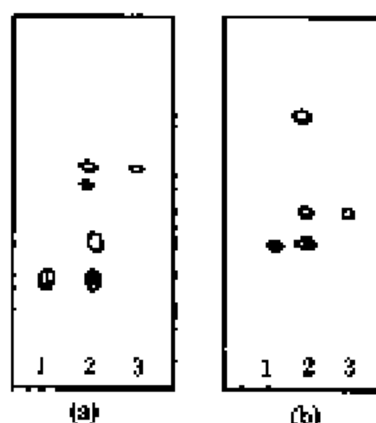


图 14-177　枸杞的 TLC 图[12]

样　品：S—对照品；1～3—枸杞；4—宁夏枸杞；5—北方枸杞

薄层板：硅胶 G

展开剂：氯仿—丙酮（体积比＝9∶1）



(a)　(b)

图 14-178　黄芩的 TLC 图[56]

样　品：1—黄芩试对照品；2—供试品；3—缺黄芩空白对照

薄层板：聚酰胺

展开剂：(a) 36%乙酸；(b) 醋酸乙酯＋丁酮＋甲酸＋水（体积比＝6∶6∶1∶1）

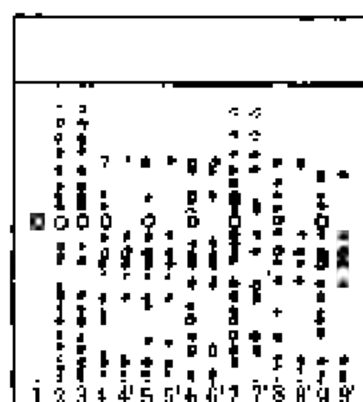


图 14-179 黄芩类药物的TLC图

样 品：1—黄芩苷对照品；2—黄芩；3—枯黄芩；4—银黄片；5—银黄口服液；6—牛黄解毒片；7—防风通圣丸；8—清热解毒口服液；9—双黄连口服液；4'～9'—4～9的阴性对照品

固定相：聚酰胺薄膜

展开剂：SDS：正丁醇：正庚烷（质量比＝0.87：0.03：0.1）

0 原点　　17.38cm 前沿

图 14-180 硝基苯类化合物的TLC图

斑 点：1—NO_2-C_6H_4(NO_2)—S—$CH_2CO_2CH_3$；

2—NO_2-C_6H_3(Cl)—S(→O)—$CH_2CO_2CH_3$；

3—NO_2-C_6H_3(Cl)—S(=O)(=O)—$CH_2CO_2CH_3$

展开剂：石油醚＋乙酸乙酯＋二氯甲烷（体积比＝40：10：4）

薄层板：硅胶 GF_{254}

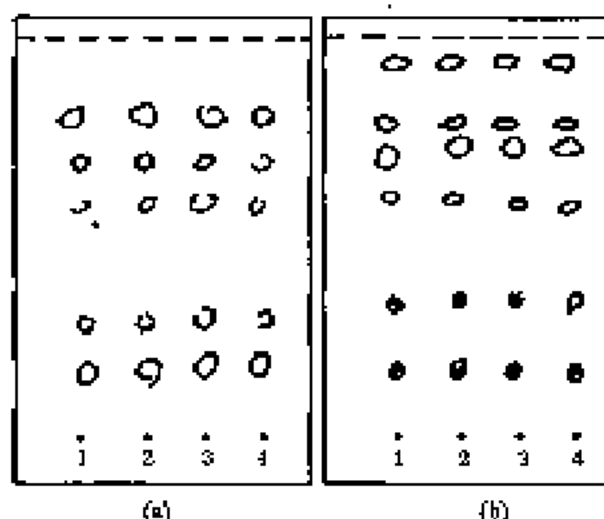


样 品：1—浙江产蔓荆子；2—牡荆素；3—对羟基苯甲酸

薄层板：RP-18F_{254}

展开剂：四氢呋喃＋水（体积比＝46：54，含 0.1% TBABr）

图 14-181 蔓荆子的反相TLC图[16]



(a)　　(b)

图 14-182 蒙药土木香的TLC图

样 品：1—内蒙古蒙药厂；2—内蒙古蒙医学院附属医院；3—内蒙古哲里木盟蒙医研究所；4—标准品

薄层板：硅胶G＋0.5% CMC-Na

展开剂：石油醚＋乙酸乙酯＋苯（体积比＝12.5：7：7）

显色剂：(a) UV (254nm)；(b) 5%香草醛硫酸溶液

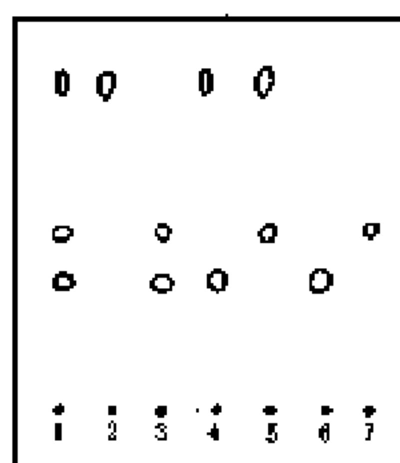


图 14-183 蒙药日-顺-4汤鉴定的TLC谱图

样 品：1—试样；2—黄柏（＋）；3—黄柏（－）；4—黄柏皮（－）；5—栀子（－）；6—栀子苷标准品；7—栀子苷标准品溶液

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：氯仿＋甲醇＋25%氨水（体积比＝4：1：0.05）

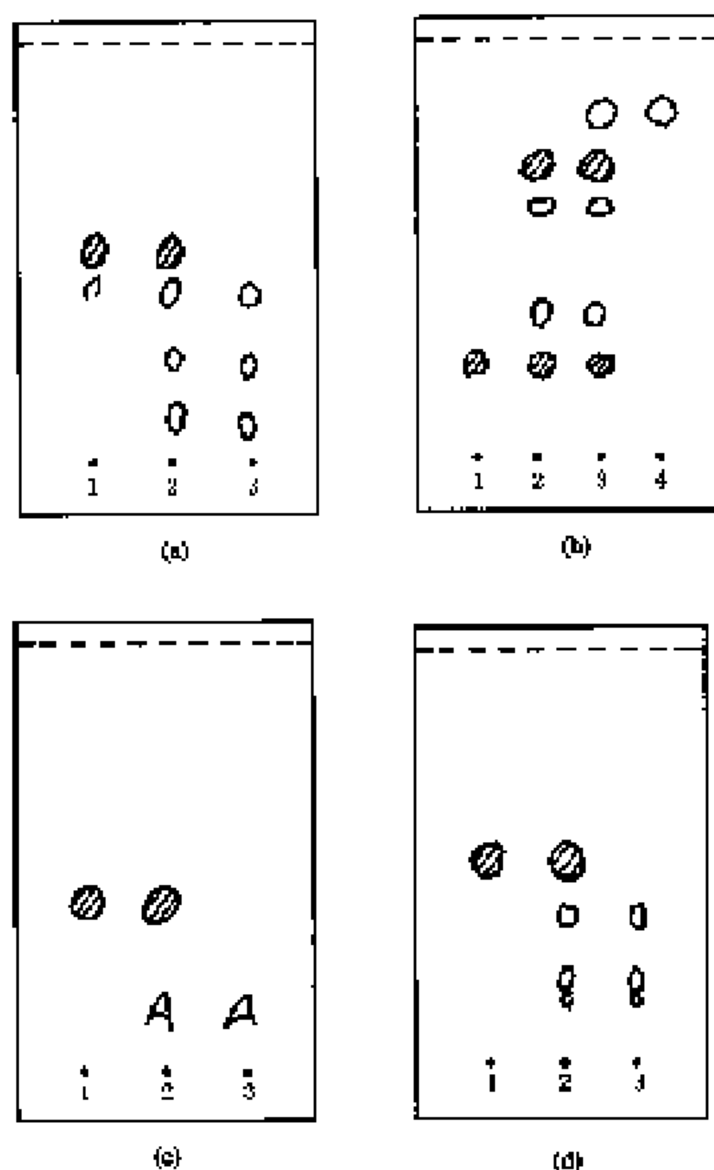


图 14-184　蒙药四味土木香散组成草药的 TLC 图[314]

a. 土木香；b. 苦参；c. 珍珠杆；d. 山柰

样　品：(a) 1—土木香对照液；2—模拟样品供试液；3—空白对照液；(b) 1—氧化苦参碱标准对照品；2—苦参对照液；3—模拟样品供试液；4—空白对照液；(c) 1—珍珠杆对照液；2—模拟样品供试液；3—空白对照液；(d) 1—山柰对照液；2—模拟样品供试液；3—空白对照液

薄层板：(a)、(b)、(d) 硅胶 G+0.5% CMC-Na；(c) 聚酰胺板

展开剂：(a) 石油醚+乙酸乙酯+苯（体积比=15∶3∶3）；(b) 石油醚+乙酸乙酯+苯（体积比=10∶6∶6）；(c) 石油醚+乙酸乙酯+苯（体积比=6∶4∶4）；(d) 石油醚+乙酸乙酯+苯（体积比=12.5∶7∶7）

显色剂：(a) 5%香草醛硫酸溶液；(b)、(d) UV (254nm)；(c) 氨气熏后，UV (254nm)

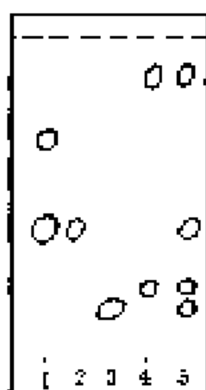


图 14-185 蒙药嘎古拉-4 汤的 TLC 图[41]

色谱峰：1—小茴香；2—草果；3—木香；4—丁香；5—嘎古拉-4 汤

固定相：硅胶

展开剂：石油醚∶乙酸乙酯∶正己烷（体积比=9∶1∶17）

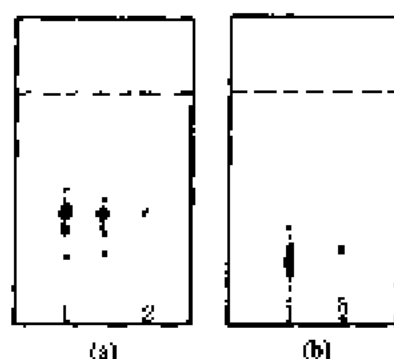


图 14-186 诺氟沙星不同方法处理下的 TLC 图[42]

样　品：1—诺氟沙星（25 μg）；2—二甲基甲酰胺和氯仿的诺氟沙星溶液

薄层板：硅胶 H

展开剂：氯仿+甲醇−乙酸乙酯+浓氨溶液（体积比=15∶10∶2.5∶3）

注：(b) 放置中间药盘处

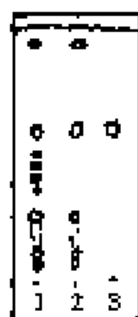


图 14-187 槟榔四消丸中大黄素的 TLC 图[43]

色谱峰：1—样品；2—阴性对照液；3—大黄素对照品

固定相：硅胶高效薄层板

展开剂：甲苯∶乙酸乙酯∶甲酸（体积比=15∶2∶1）

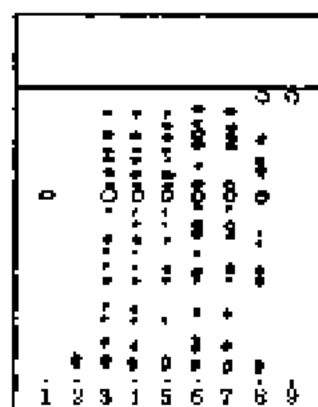


图 14-188 槐米类药物的 TLC 图[44]

样　品：1—芦丁对照品；2—槲皮素对照品；3—槐花；4—槐米；5—炒槐米；6—槐角；7—槐角炭；8—复方芦丁片；9—复方芦丁片阴性对照品

固定相：聚酰胺薄膜

展开剂：SDS+正丁醇+正庚烷（质量比=0.27∶0.63∶0.1）

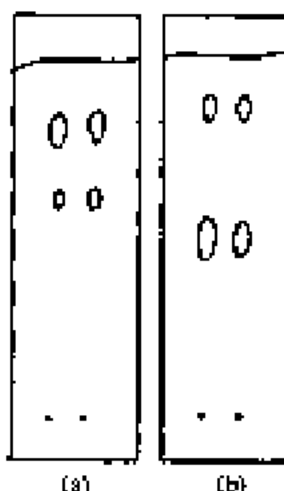


图 14-189 芳香醇胺药物对映体拆分 TLC 图[45]

色谱峰：(a) 拉贝洛尔；(b) 舒喘灵

固定相：硅胶 GF_{254}

展开剂：(a) 二氯甲烷+甲醇（体积比=67∶33）含 6.8 $mmol \cdot L^{-1}$ D-10-樟脑磺酸钠

(b) 二氯甲烷+甲醇（体积比=60∶40）含 6.8 $mmol \cdot L^{-1}$ D-10-樟脑磺酸钠

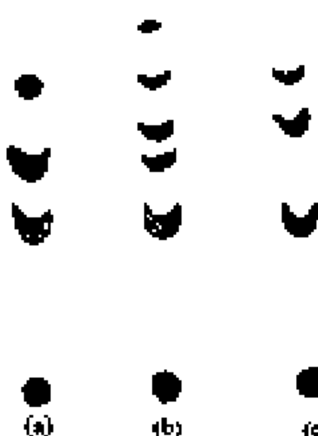


图 14-190 磺甲基化碱木质素分散剂的 TLC 图[46]

色谱峰：(a) DLS；(b) M-9；(c) Reax-85A

固定相：硅胶 GF_{254}

展开剂：正丁醇−异丙醇+水（体积比=8∶10∶8.5）

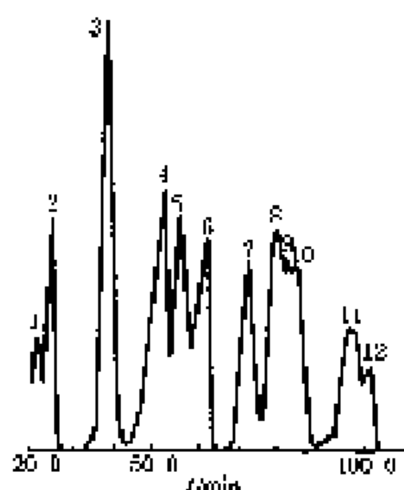


图 14-191 磺胺类药物的 TLC 扫描图[198]

色谱峰：1—醋酸磺胺醋酰钠；2—磺胺脒；3—SG；4—TMP；5—SN；6—二甲磺胺；7—SP；8—磺胺嘧啶；9—SMD；10—SM_2；11—周效磺胺；12—磺胺丙嗪

薄层板：硅胶 GF_{254} + 0.3% CMC-Na

展开剂：甲苯+甲醇+二氯乙烷+四氯化碳（体积比=1.68:1.41:3.64:3.37）

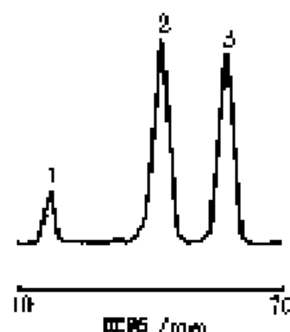


图 14-192 增效联磺片的 TLC 图[75]

色谱峰：1—TMP；2—SD；3—SMZ

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：水饱和的乙酸乙酯+氯仿（体积比=2:1）

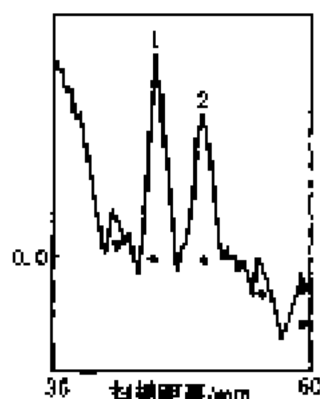


图 14-193 腺嘌呤核苷和 6-氨基嘌呤的 TLC 扫描图[31]

斑 点：1—腺嘌呤核苷；2—6-氨基嘌呤

薄 板：硅胶 GF_{254}，100 mm×200 mm×0.5 mm，110 ℃活化 1h

展开剂：正丁醇+异丙醇+氨水+水（体积比=2:8:1:1）

检测器：单波长薄层色谱扫描

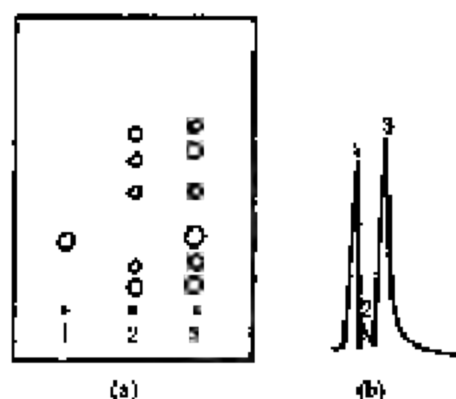


图 14-194 脑脊液中血小板活化因子的 TLC 展开图[314]

（a）脑脊液薄层展开图；（b）脑脊液薄层扫描图

色谱峰：1—标准品；2—正常人脑脊液；3—脑出血患者的脑脊液

固定相：硅胶 G 板

展开剂：氯仿+甲醇+水（体积比=45:35:6）

显色剂：100 g·L^{-1}磷钼酸溶液

扫描波长：630 nm

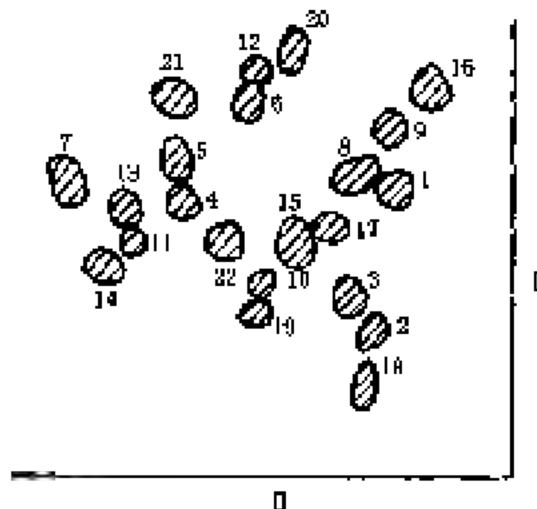


图 14-195 碱基-核苷类标准液的 2D-TLC 图[80]

斑 点：1—腺嘌呤（A）；2—鸟嘌呤（G）；3—黄嘌呤（X）；4—次黄嘌呤（HX）；5—尿嘧啶（U）；6—胸腺嘧啶（T）；7—胞嘧啶（C）；8—甲基腺嘌呤（m-A）；9—腺苷（As）；10—鸟苷（Gs）；11—尿苷（Ud）；12—胸苷（Td）；13—胞苷（Cd）；14—假尿苷（Psd）；15—胸苷（Td）；16—脱氧腺苷（DoAs）；17—脱氧鸟苷（DoGs）；18—尿酸（Uric）；19—乳清酸（Orotic）；20—马尿酸（Hip）；21—尼克酸（Nic）；22—肌苷（Is）

薄层板：微晶纤维素-硅胶 G

展开剂：Ⅰ 异丙醇+乙酸乙酯+甲醇+氨水+水（体积比=10:6:2:6:8）

Ⅱ 异丙醇+饱和硫酸铵+水（体积比=4:77:19）

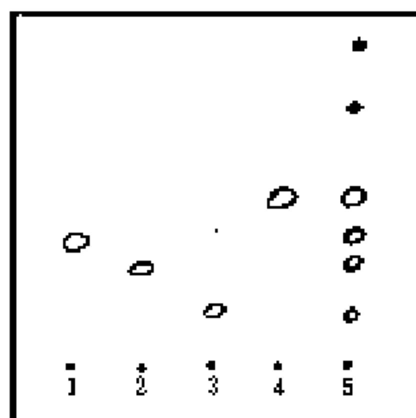
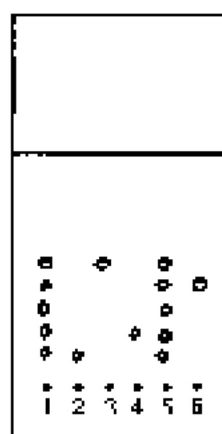


图 14-196 银杏萜内酯的 TLC 图[144]

样　品：1—GA；2—GB；3—GC；4—BB；5—EGb

薄层板：硅胶 G+0.5%CMC-Na（质量比=3∶10）

展开剂：乙酸乙酯-甲苯-丙酮-正己烷（体积比=4∶4∶1∶1）



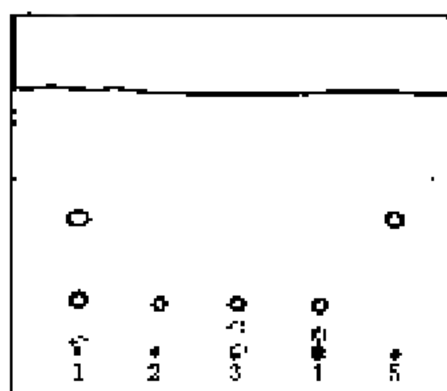
样　品：1—桂林市第三制药厂产盐酸四环素；2—4-差向四环素对照品；3—脱水四环素对照品；4—4-差向脱水四环素对照品；5—金霉素标准品；6—盐酸四环素标准品

薄层板：微晶纤维素+5%乙二胺四乙酸二钠溶液

展开剂：5%乙二胺四乙酸二钠（pH8.8）饱和的正丁醇溶液

显色：UV（365nm）

图 14-197 盐酸四环素有关物质的 TLC 图[145]



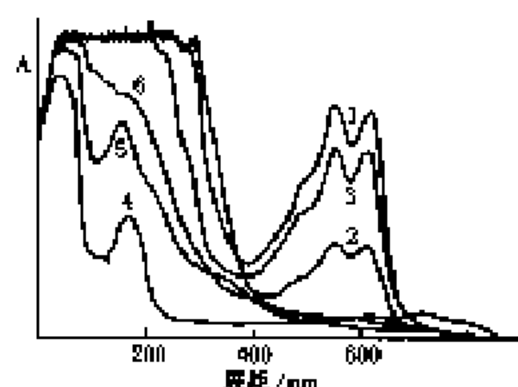
样　品：1—供试液；2—乌头碱对照液；3—川乌药材提取液；4—草乌药材提取液；5—阴性样品液（去川乌、草乌）

薄层板：硅胶 G+0.3%CMC

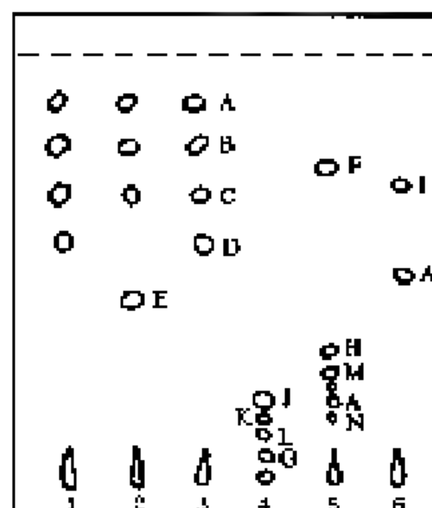
展开剂：石油醚+乙醚（体积比=3∶8）

显色剂：碘化铋钾溶液

图 14-198 启脾膏中乌头碱的 TLC 图[146]



(a)



(b)

图 14-199 紫檀香及其混伪品的 TLC 图[119]

(a) 可见紫外光谱图；(b) TLC 展开谱图

样　品：(a) 1—紫檀香（Pterocarpus indicus Willd.）对照品（紫红色）；2—紫檀香（新锯面为红褐色）；3—紫檀香（Pterocarpus indicus Willd.）（新锯面紫红色）；4—苏木（Caesalpinia sappan L.）；5—降香（Dalbergia odorifera T. Chen）；6—染色未知物

斑　点：(b) A—橙红色；B—黄褐色；C—亮蓝色；D—浅黄色；E—粉红色；F—荧光蓝色；G—橙色；H—灰蓝色；I—黄色；J—浅紫色；K—黄褐色；L—紫红色；M—鲜黄色；N—红色

薄层板：硅胶 G　　展开剂：氯仿+甲醇（体积比=95∶5）

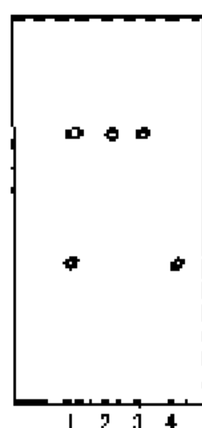


图 14-200 硝苯地平注射液的 TLC 图[114]

样　品：1—光分解 5 天注射液；2—标准溶液；3—未光分解注射液；4—光分解 10 天注射液

斑　点：A—硝苯地平斑点（254nm）；B—光解物斑点（365nm）

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：苯＋乙酸乙酯＋二乙胺（体积比＝18：6：0.5）

显色条件：UV254nm，365nm 照射

点样量：15μl

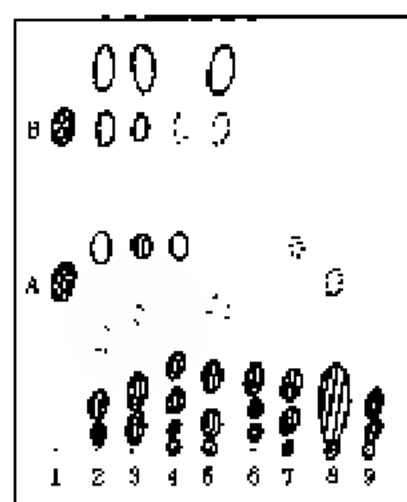


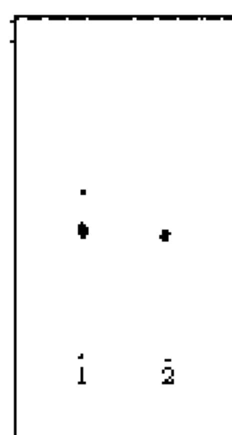
图 14-201 附子乙醚浸出物的 TLC 图[115]

样　品：1—A. 乌头碱，B. 次乌头碱；2—样品 10；3—样品 18；4—样品 9；5—样品 8；6—样品 11；7—样品 12；8—样品 13；9—样品 14

薄层板：氧化铝板

展开剂：甲醇＋水＋氯仿＋三乙胺（体积比＝75：25：8：0.1）

显色剂：碘蒸气



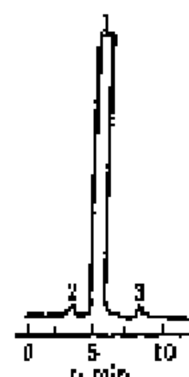
(a)



(b)



(c)



(d)

图 14-202 茶碱有关物质检测的 TLC 图[116]

(a)(b) 薄层图；(c)(d) 对照液相色谱图

样　品：(a) 茶碱供试品和对照品；(b) 茶碱供试品和对照品及有关物质对照品

1—茶碱供试品；2—茶碱对照品；3—咖啡因对照品；4—可可豆碱对照品；5—对照品混合液

(c) 茶碱供试品；(d) 对照品

色谱峰：1—茶碱；2—杂质峰（可可豆碱）；3—咖啡因

薄层板：硅胶 GF_{254}＋0.5%羧甲基纤维素钠

展开剂：丙酮＋氯仿＋甲醇＋正丁醇＋浓氨（体积比＝3：3：2：2：1）

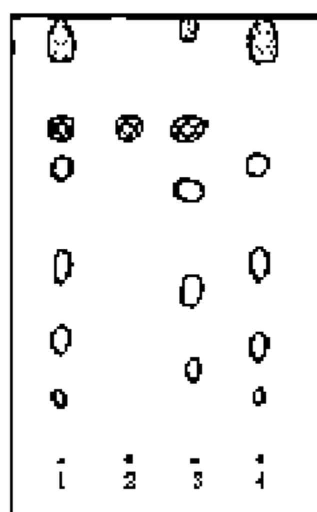


图14-203　跌圣酊中栀子检测的TLC图[18]

样　品：1—试样；2—栀子苷对照；3—栀子对照；4—空白对照

薄层板：硅胶G+羧甲基纤维素

展开剂：乙酸乙酯+丙酮+甲酸+水（体积比=5∶5∶1∶1）

显色剂：硫酸乙醇溶液

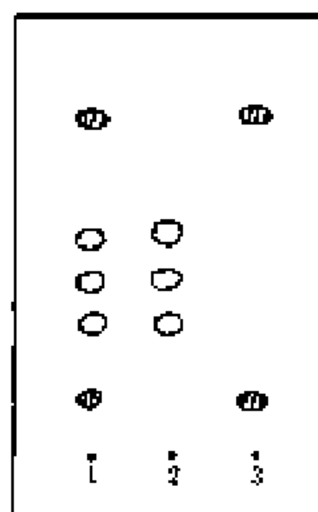


图14-204　跌圣酊中姜黄检测的TLC图[19]

样　品：1—跌圣酊试样；2—姜黄对照；3—空白对照

薄层板：硅胶G+羧甲基纤维素

展开剂：氯仿+无水乙醇+浓氨水（体积比=30∶3∶0.5）

显色剂：自然光下检视

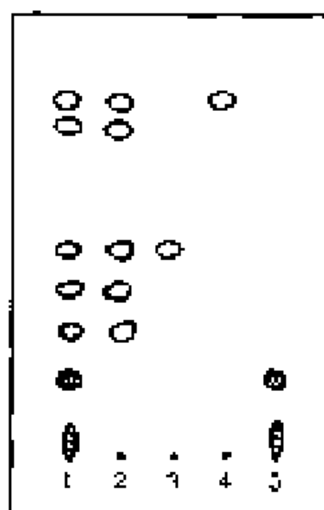


图14-205　跌圣酊中大黄检测的TLC图[20]

样　品：1—跌圣酊试样；2—大黄对照；3—大黄素；4—大黄酚；5—空白对照

薄层板：硅胶G+羧甲基纤维素

展开剂：石油醚+甲酸乙酯+甲酸（体积比=15∶5∶1）

显色剂：氨气

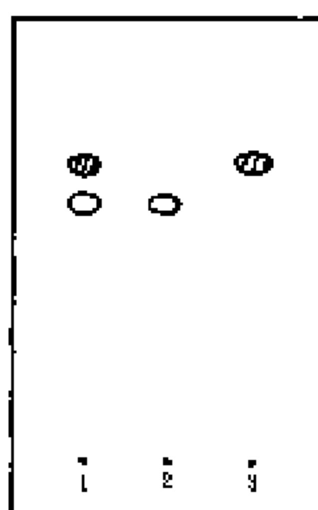


图14-206　跌圣酊中当归检测的TLC图[21]

样　品：1—试样；2—当归对照；3—空白对照

薄层板：硅胶G+羧甲基纤维素

展开剂：正己烷+乙酸乙酯（体积比=9∶1）

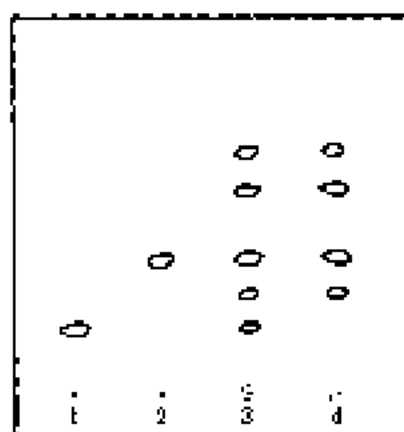


图 14-207　息风宁心片中葛根素测定的 TLC 图[314]

样　品：1—芦丁（内标）；2—葛根素；3—样品（含内标）；4—样品（不含内标）

薄层板：硅胶 GF_{254}

展开剂：乙酸乙酯+甲酸+水（体积比=8∶1∶1）

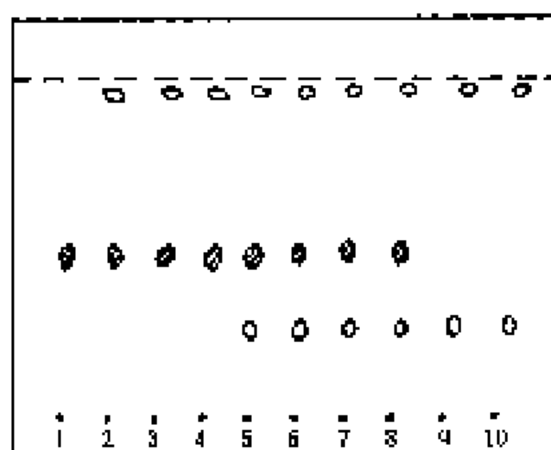


图 14-208　含益母草中成药中水苏碱测定的 TLC 图[315]

样　品：1—水苏碱对照品溶液；2—益母草；3—益母草膏；4—益母草冲剂；5—益母草口服液；6—益母丸；7—益母冲剂；8—益母口服液；9—八珍益母丸；10—益母丸空白对照液

薄层板：硅胶 G+0.3%CMC-Na

展开剂：丙酮+无水乙醇+盐酸（体积比=10∶6∶1）

显色剂：改良碘化铋钾试液+1%三氯化铁无水乙醇溶液（5∶1）

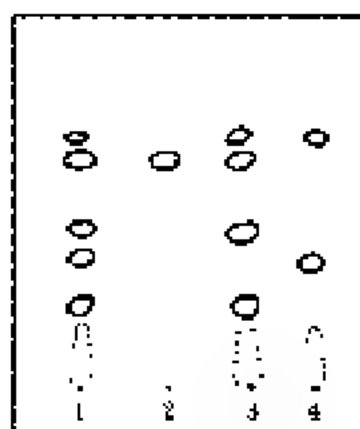


图 14-209　药物尿塞通的 TLC 图（一）[357]

样　品：1—药物尿塞通；2—丹参酮Ⅱ$_A$标准液；3—丹参药材液；4—丹参空白液

薄层板：硅胶 G+0.2%CMC-Na

展开剂：苯∶乙酸乙酯（体积比=19∶1）

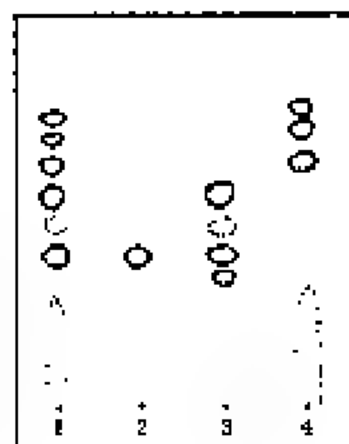


图 14-210　药物尿塞通的 TLC 图（二）[315]

样　品：1—尿塞通；2—盐酸小檗碱标准液；3—黄柏药材液；4—黄柏空白液

薄层板：硅胶 G+0.5%氢氧化钠

展开剂：氯仿+甲醇+水（体积比=13∶5∶2）

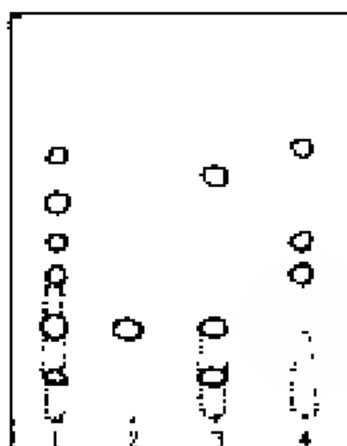


图 14-211 药物尿塞通的 TLC 图（三）[135]

样　品：1—尿塞通；2—橙皮苷标准液；3—陈皮药材液；4—陈皮空白液

薄层板：硅胶 G＋0.5% NaOH

展开剂：乙酸乙酯＋甲醇＋水（体积比＝100∶17∶13）



图 14-212 药物尿塞通的 TLC 图（四）[1

样　品：1—尿塞通；2—芍药苷标准液；3—赤芍药材液；4—赤芍空白液

薄层板：硅胶 G

展开剂：氯仿＋乙酸乙酯＋甲醇＋甲酸（体积比＝20∶2.5∶5∶0.1）

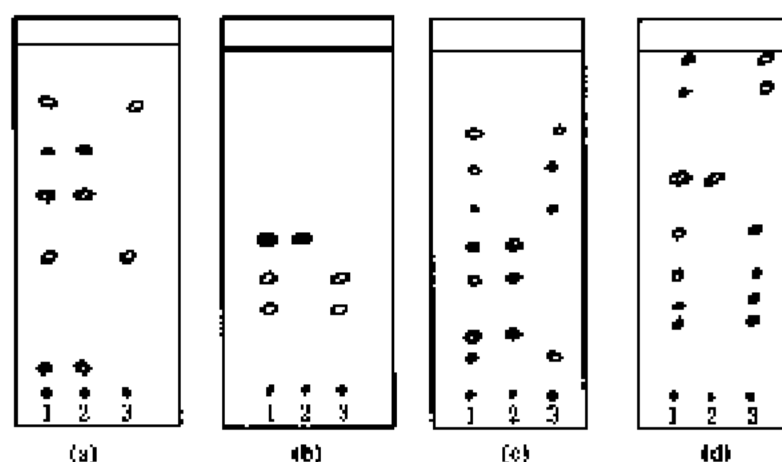


图 14-213 镇咳灵口服液中四种中草药的 TLC 图[137]

(a) 射干；(b) 黄芩；(c) 桔梗；(d) 百部

样　品：1—供试品；2—相应的对照品溶液；3—相应的空白对照溶液

薄层板：(a)、(b) 硅胶 GF_{254}；(c)、(d) 硅胶 G；

展开剂：(a) 氯仿＋丙酮＋甲酸（体积比＝4∶2∶1）；

(b) 丁醇＋甲醇＋甲酸＋水（体积比＝7∶1∶1∶1）；

(c) 乙酸乙酯＋甲醇＋水（体积比＝4∶1∶1）；

(d) 乙酸乙酯＋环己烷（体积比＝9∶1）

显色剂：(a)、(b) UV（254nm）；(c) 10%硫酸乙醇溶液；(d) 稀碘化铋钾溶液

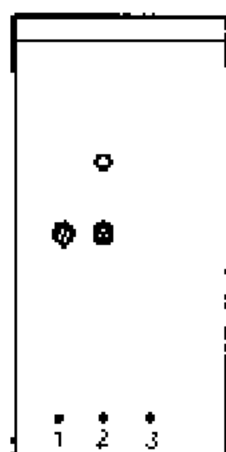


图 14-214　麻黄碱的 TLC 图[132]

样　品：1—对照品；2—供试品溶液；3—空白对照溶液

薄层板：硅胶G

展开剂：氯仿＋甲醇＋浓氨水（体积比＝20∶5∶0.5）

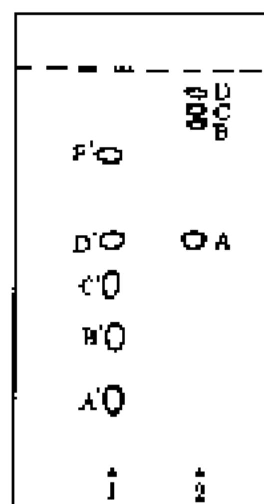


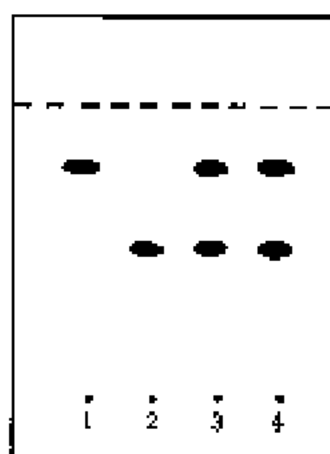
图 14-215　菟丝子和芜菁子的 TLC 图[134]

样　品：1—芜菁子；2—菟丝子

斑　点：A—黄绿色；C—亮蓝色；B、D—暗红色；A'、B'、C'、E'—亮蓝色；D'—黄绿色

薄层板：硅胶G

展开剂：甲苯＋乙酸乙酯＋甲醇（体积比＝6∶5∶3）



样　品：1—大黄酚对照品；2—丹参酮ⅡA对照品；3—混合对照品；4—供试品

薄层板：硅胶G

展开剂：苯＋乙酸乙酯（体积比＝19∶1）

图 14-216　[illegible]中大黄酚和丹参酮ⅡA检测的 TLC 图[139]

参 考 文 献

1　J Chrom Sci, 1989, 27, 537

2　Malik A, Jusno K. Chromatographia, 1991, 31 (11/12): 561~568

3　J Chrom Sci, 1989, 27, 622

4　J Chrom Sci, 1993, 31, 154

5　J Chrom Sci, 1990, 28, 274

6　J Chrom Sci, 1992, 30, 113

7　J Chrom Sci, 1990, 28, 91

8　J Chrom Sci, 1990, 28, 218

9　J Chrom Sci, 1987, 25, 585

10 J Chrom Sci, 1989, 27: 425
11 J Chrom Sci, 1993, 31: 243
12 Veuthey J L, Caude M, Rosset R. Chromatographia, 1989, 27: 105
13 J Chrom Sci, 1993, 31: 138
14 J Chrom Sci, 1990, 28: 550
15 J Chrom Sci, 1989, 27: 367
16 J Chrom Sci, 1990, 28: 348
17 J Chrom Sci, 1993, 31: 107
18 J Chrom Sci, 1993, 31: 45
19 J Chrom Sci, 1993, 31: 64
20 J Chrom Sci, 1987, 25: 567
21 J Chrom Sci, 1987, 25: 178
22 J Chrom Sci, 1990, 28: 607
23 J Chrom Sci, 1987, 25: 89
24 J Chrom Sci, 1987, 25: 481
25 J Chrom Sci, 1988, 26: 244
26 Huang E C. BYU, Dept of Chemistry, 106 ESC, Provo, UT, 84602
27 J Chrom Sci, 1988, 26: 194
28 J Chrom Sci, 1989, 27: 367
29 J Chrom Sci, 1990, 28: 48
30 J Chrom Sci, 1990, 28: 275
31 J Chrom Sci, 1990, 28: 155
32 J Chrom Sci, 1991, 29: 48
33 J Chrom Sci, 1987, 25: 178
34 J Chrom Sci, 1988, 26: 131
35 J Chrom Sci, 1988, 26: 360
36 J Chrom Sci, 1993, 26: 442
37 John R P, David E G. J Chromatogr, 1990, 640, 267
38 J Chrom Sci, 1993, 30: 295
39 Khorassani M A, Taylor L T, Henry R A. Chromatogr, 1989, 28, 569
40 J Chrom Sci, 1990, 28: 538
41 J Chrom Sci, 1990, 26: 653
42 J Chrom Sci, 1993, 31: 581
43 J Chrom Sci, 1989, 27: 337
44 J Chrom Sci, 1991, 29: 274
45 J Chrom Sci, 1988, 26: 83
46 J Chrom Sci, 1988, 26: 45
47 J Chrom Sci, 1989, 27: 55
48 J Chrom Sci, 1991, 29: 130
49 J Chrom Sci, 1988, 26: 421
50 J Chrom Sci, 1993, 31: 346
51 Sakaki K, Hirata H. J Chromatogr, 1991, 585, 117
52 J Chrom Sci, 1991, 29: 462
53 Kent M P, Bryon J T, Jerald D B. Anal Chem, 1990, 62, 1379
54 J Chrom Sci, 1992, 30: 468
55 J Chrom Sci, 1988, 26: 540
56 J Chrom Sci, 1990, 28: 448

57 J Chrom Sci, 1987; 25, 484, 483

58 靳丽华, 班允东, 孙毓庆. 色谱, 1997; 15, 263

59 J Chrom Sci, 1991; 29, 369

60 J Chrom Sci, 1990; 28, 495

61 J Chrom Sci, 1991; 29: 173~177

62 雷根虎, 曹永民. 色谱, 1996; 14: 258

63 J Chrom Sci, 1998; 26, 298

64 J Chrom Sci, 1991; 29, 540

65 J Chrom Sci, 1987; 25: 1

66 J Chrom Sci, 1991; 29, 274

67 J Chrom Sci, 1991; 29, 324

68 John R P, David E G. J Chromatogr, 1991; 540, 230

69 于顺华, 李景清, 吴志勇. 药物分析杂志, 1996; 16, 267

70 马邦英, 曾静, 陈福昌. 药物分析杂志, 1995; 15, 46

71 乌云, 李荣真, 田泽华. 色谱, 1996; 14, 75

72 方郡, 吕凤英, 丁艳. 药物分析杂志, 1996; 16, 261

73 毛凤荣等. 药物分析杂志, 1996; 16: 340

74 王凤荣, 高静. 药物分析杂志, 1995; 15, 47

75 王梅等. 药物分析杂志, 1996; 16, 380

76 蒙斌, 刘莉萍, 丁仲伯. 药物分析杂志, 2000, 20(2), 121

77 冯金娥, 孙金华. 色谱, 1994; 12, 320

78 冯雪琳, 张生万, 张有智. 色谱, 1994, 12: 364

79 叶丰, 冯泰阁, 徐宝荣. 色谱, 1996, 14, 317

80 白政忠, 吴大卫. 药物分析杂志, 1995: 15: 47

81 刘玉琴, 钱得金, 白武龙. 药物分析杂志, 1999, 19(4), 275

82 石力夫, 邓晖昭, 吴柏生. 药物分析杂志, 1995, 15, 26

83 吕武清, 顾华荣. 药物分析杂志, 1996; 16, 197

84 孙文基, 赵晓文, 曹利华. 药物分析杂志, 1996, 16, 59

85 吴有光, 赵勤梅, 楚飞. 色谱, 1996, 14: 259

86 张丁辰, 戴文荣. 药物分析杂志, 1995; 15: 15

87 张燕, 曹静. 药物分析杂志, 1996; 16, 255

88 李高兰, 黄春斌, 杨国生. 色谱, 1999; 17, 215

89 李桥娜, 毕淑玲, 刘振涛. 色谱, 1997, 15, 425

90 李青翠, 钟丽薇, 钟化人. 药物分析杂志, 1996, 16, 334

91 李玲玲, 李敏伸, 何金山. 药物分析杂志, 1996, 16, 28

92 李重文, 罗国荣. 色谱, 1995, 13, 277

93 杨满虎, 罗运秀. 药物分析杂志, 1995; 15, 17

94 杨清慧, 方霞. 药物分析杂志, 1995, 15: 35

95 沈来军. 色谱, 1997, 15, 380

96 邱慎, 崔开佳, 孙树庆. 色谱, 1996, 14, 211

97 陈心普, 刘云. 药物分析杂志, 1996, 16: 303

98 郑建光等. 药物分析杂志, 2000, 20(1): 65

99 周兴旺, 徐国钧, 王强. 药物分析杂志, 1996, 16, 311

100 张树勋, 丁厚春, 尹卫红. 分析化学, 1999, 27(4), 437

101 陈国振, 李力, 谢小青. 色谱, 1991, 9, 477

102 罗先明, 钱武杰, 梁华文. 药物分析杂志, 1996, 16, 338

103 金向群, 王奎. 药物分析杂志, 1996, 16, 112

104 曾世贤，何晓霞，郑鹏举. 药物分析杂志，1995，15，46
105 胡之德，张彦生. 色谱，1985，3，191
106 赵玉兰，李艳，唐云. 色谱，1996，14：240
107 张先东，孙曙光，于云鹏. 色谱，1992，10，108
108 郝文辉，相建国. 药物分析杂志，1995，16，64
109 蔡穗虎，郑治安，张明新. 色谱，1985，3，104
110 霍银虎，曹永民. 色谱，1996，14：158
111 蔺四华，张先东，孙曙庆. 色谱，1997，15，263
112 王军，张新江，胡晓丽等. 色谱，1999，17(6)，591
113 李高兰，戴春燕，吴国伟等. 色谱，1999，17(2)，215
114 刘翔英，陈福容. 药物分析杂志，1993，13(5)，314
115 王 力，刘照平，王飞等. 药物分析杂志，1994，14(1)，55
116 阎庆旺. 药物分析杂志，1994，14(1)，57
117 林 媛，严国军，鲁静. 药物分析杂志，1994，14(2)，27
118 苏 青，王宝琴. 药物分析杂志，1994，14(2)：35
119 白武尧. 药物分析杂志，1994，14(2)，40
120 张居齐，张玉琴. 药物分析杂志，1994，14(2)，43
121 张 玲，于宗刚，宋宝国等. 药物分析杂志，1996，16(3)，185
122 乐健，肖航. 药物分析杂志，1996，16(3)，193
123 龚泽乾. 药物分析杂志，1994，14(6)，25
124 陈志成，杜增辉，牛秀伟. 药物分析杂志，1994，14(6)，36
125 韩国强，曹爱兰，钟佑人. 药物分析杂志，1997，17(4)：259
126 赵中华，吕 磊，梁恒祥等. 药物分析杂志，1997，17(4)：286
127 陈 幸，夏文娟，方锡鹏. 药物分析杂志，1995，15(4)，6
128 周文焱，董 裕. 药物分析杂志，1995，15(4)，41
129 赵 恒，徐景仁，郑瑞玲. 药物分析杂志，1995，15(1)，33
130 梁世贤，何晓霞，郑鹏举等. 药物分析杂志，1995，15(4)，40
131 王凤美，葛 静. 药物分析杂志，1995，15(3)，47
132 金斌. 药物分析杂志，1998，18(4)，173
133 于晓强，樊明森，唐晓林等. 药物分析杂志，1998，18(3)，176
134 李汉章，杨明鑫. 药物分析杂志，1998，18(3)，207
135 梁华英，李镇友. 药物分析杂志，1998，18(3)，207
136 陈 杰，詹海泉，段刚毅. 药物分析杂志，1997，17(5)，415
137 张晓民. 药物分析杂志，1996，16(1)，33
138 马 展，罗维泉. 药学学报，1992，27(12)：934
139 马翠英，陈晓军，梅光锋. 药物分析杂志，1996，16(2)：119
140 祖爱平，乐云敏，周亚魏等. 药物分析杂志，1998，18(2)，87
141 常海勤. 药物分析杂志，1996，16(6)，406
142 中华人民共和国药典·二部. 1995，595
143 张 玲，单卫华，时延增. 药物分析杂志，1997，17(6)：408
144 雷于平，钱凤禹，郑卫平. 药物分析杂志，1998，18(5)，306

第十五章　毛细管电泳谱图

第一节　毛细管区带电泳谱图

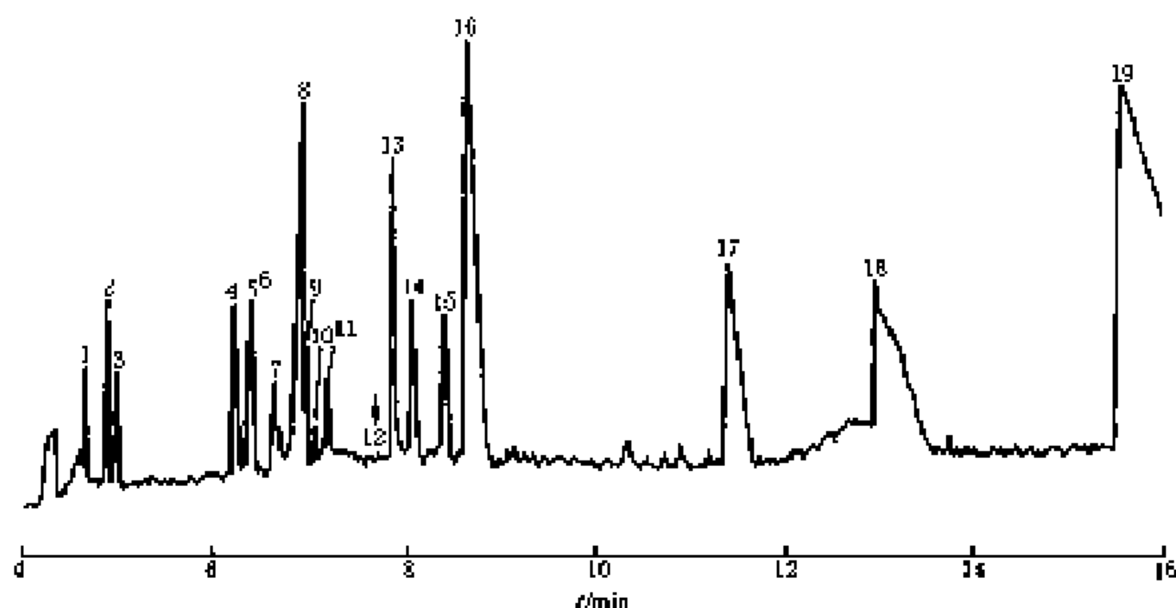


图 15-1　1,4-内酯与糖酸的电泳分离谱图[1]

电泳峰：1—D-半乳糖酸-1,4-内酯+D-木糖酸-1,4-内酯；2—β-异己糖酸-1,4-内酯；3—α-异己糖酸-1,4-内酯；4—D-来苏糖酸-1,4-内酯；5—D-葡糖酸-1,4-内酯；6—L-甘露糖酸-1,4-内酯；7—D-核糖酸-1,4-内酯；8—[illegible]；9—α,β-异己糖酸；10—D-葡萄糖醛酸；11—2-氨基-葡萄糖酸；12—D-半乳糖酸；13—D-赤藓糖酸；14—木质酸；15—L-甘露糖酸+D-木糖酸；16—葡糖酸，L-苏糖酸；17—5-氨基-葡糖酸；18—葡萄糖二酸；19—酒石酸

毛细管柱：有效柱长 50 cm，全柱长 57 cm，内径 75 μm，外径 375μm

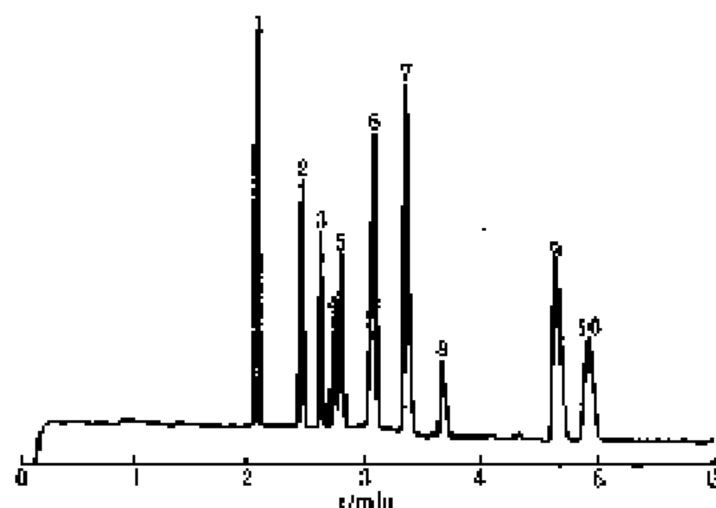
缓冲溶液：600 mmol·L⁻¹硼酸盐，pH7.0

进　样：压力，5s

温　度：20℃

电　压：20 kV

检测器：紫外 200 nm



电泳峰：1—Br^-；2—NO_2^-；3—$S_2O_3^{2-}$；4—NO_3^-；5—N_3^-；6—$Fe(CN)_6^{3-}$；7—MoO_4^{2-}；8—WO_4^{2-}；9—CrO_4^{2-}；10—ReO_4^-

毛细管柱：有效柱长 33 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹硼酸盐，pH8.5

进　样：40s

电　压：－10 kV

检测器：紫外(214nm)

图 15-2　10种无机阴离子的电泳分离谱图[2]

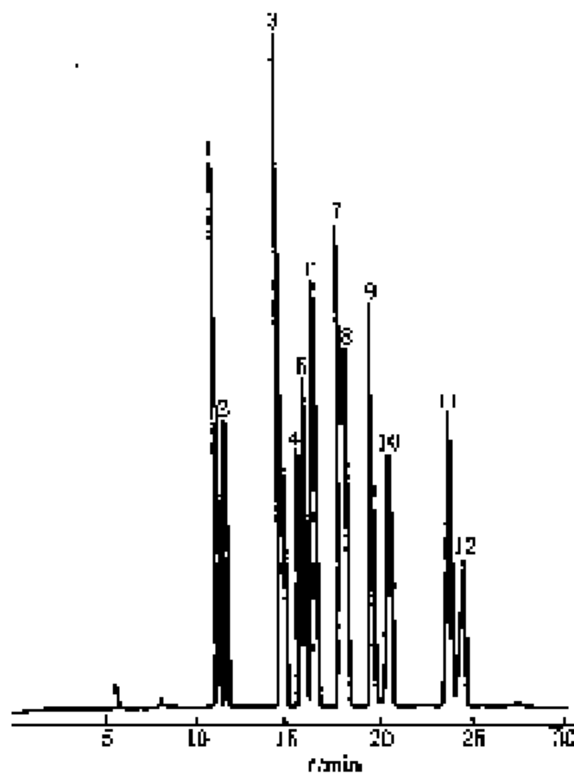


图 15-3　12 种 5'-核糖苷酸的电泳分离谱图[2]

色谱峰：1—AMP；2—CMP；3—ADP；4—GMP；5—CDP；6—ATP；7—UMP；8—CTP；9—GDP；10—GTP；11—UDP；12—UTP

毛细管柱：有效柱长 60 cm，总柱长 70 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1} Na_2CO_3+$NaHCO_3$ pH10

进　样：重力 10 cm 10s

电　压：18 kV

检测器：紫外(254nm)

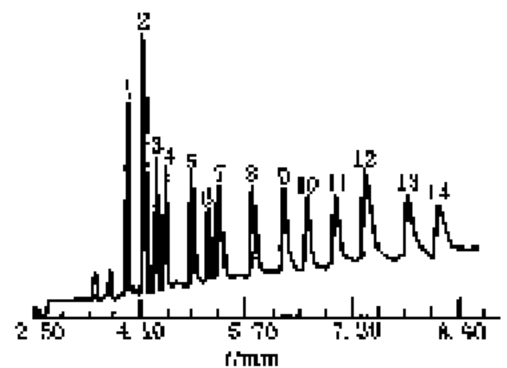


图 15-5　14 种稀土离子的毛细管电泳分离谱图[4]

色谱峰：1—La；2—Ce；3—Pr；4—Nd；5—Sm；6—Eu；7—Gd；8—Tb；9—Dy；10—Ho；11—Er；12—Tm；13—Yb；14—Lu

毛细管柱：有效长度 40 cm，总长度 36 cm，内径 50 μm，外径 350 μm

缓冲溶液：0.07 mol·L^{-1}咪唑，8 mmol·L^{-1} α-羟基异丁酸，pH3.4

进　样：21 kPa·s

电　压：10 kV

检测器：间接紫外(210nm)

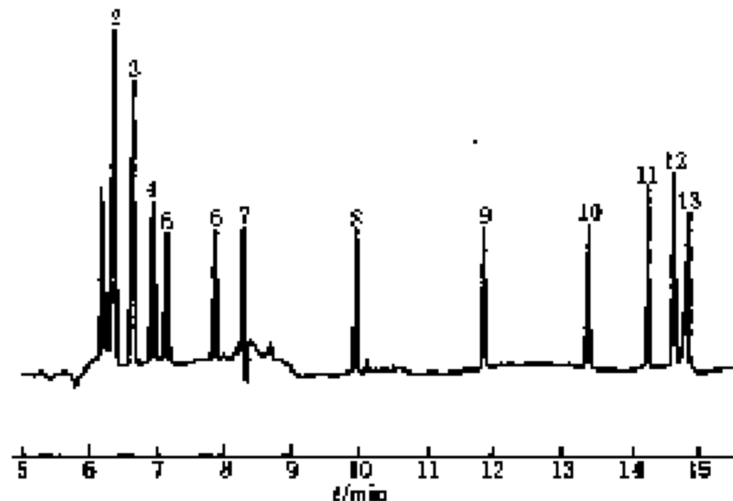


图 15-4　13 种胺类化合物电泳谱图[4]

色谱峰：1—1-氨基-2-丙醇；2—甲基胺；3—乙基胺；4—异丙基胺；5—丙基胺；6—异丁基胺；7—丁基胺；8—戊基胺；9—己基胺；10—庚基胺；11—辛基胺；12—壬基胺；13—癸基胺

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 75 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：缓冲溶液 0.75 mmol·L^{-1} resorcarene 8c，5 mmol·L^{-1} Na_3PO_4，10 mmol·L^{-1} $Na_2B_4O_7$，10%乙腈 pH9.5

电　压：20 kV

检测器：激光诱导荧光（λ_{ex}=325 nm，λ_{em}=389nm）

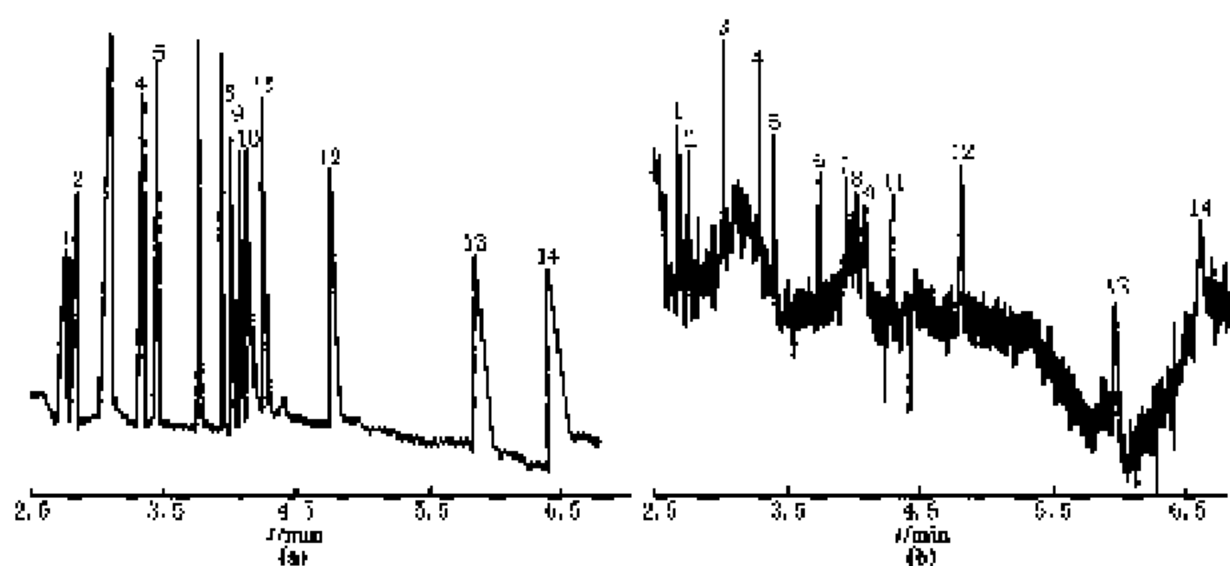


图 15-6　14 种阴离子的电泳分离谱图[5]

色谱峰：1—氯离子；2—溴离子；3—硫酸根离子；4—硫氰根；5—氯酸根；6—丙二酸根；7—酒石酸根；8—溴酸根；9—甲酸根；10—柠檬酸根；11—琥珀酸根；12—邻苯二甲酸根；13—碘离子；14—醋酸根

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 70 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：0.5 mmol·L^{-1} ITS，2.67 mmol·L^{-1} Bis-Tris，pH6.8

进　样：压力，0.5s

温　度：30℃

电　压：−30 kV

检测器：紫外(214nm)

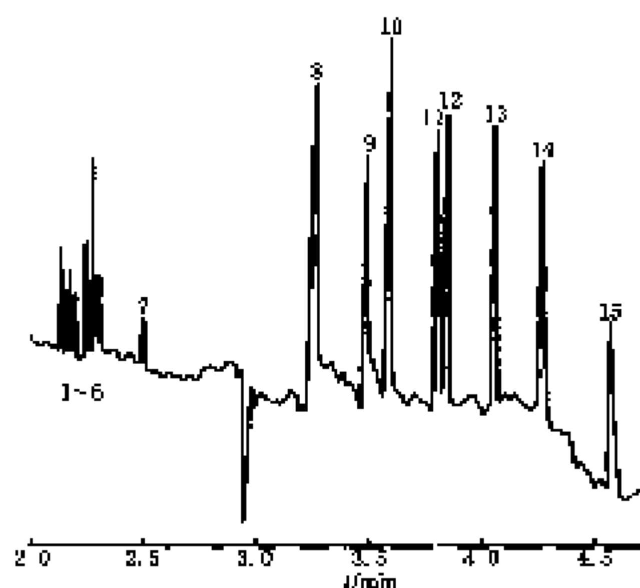


图 15-7　15 种阴离子的电泳分离谱图[7]

色谱峰：1—溴离子；2—氯离子；3—碘离子；4—亚硝酸盐离子；5—硫酸根离子；6—硝酸根；7—氯酸盐离子；8—碳酸根；9—乙酸根；10—乙基磺酸根；11—丙酸根；12—丙磺酸根；13—丁磺酸根；14—戊磺酸根；15—己磺酸根

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 60 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：5 mmol·L^{-1} 硼酸，5 mmol·L^{-1} 羟基苯甲酸，50 mmol·L^{-1} DEA，0.5 mmol·L^{-1} TTAOH pH9.20

进　样：重力，10 cm，10s

温　度：25℃

电　压：−25 kV

检测器：紫外(254nm)

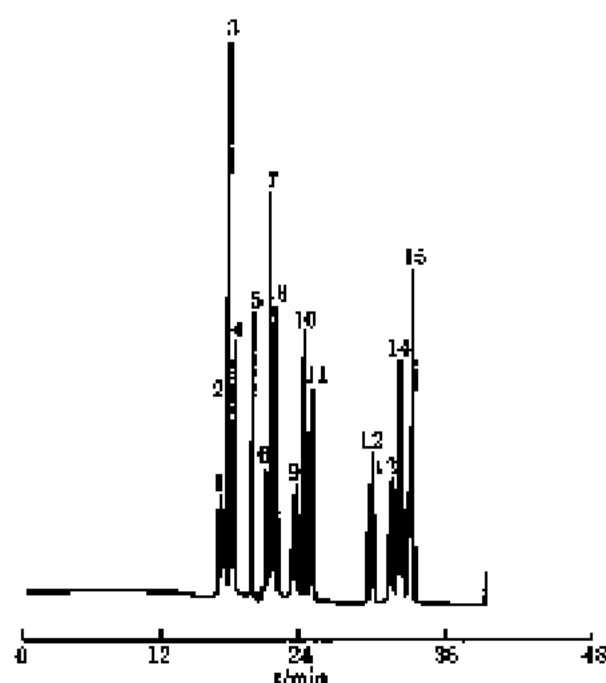


图 15-8 15 种核苷酸的电泳分离谱图[7]

色谱峰：1—UTP；2—CTP；3—ATP；4—GTP；5—UDP；6—CDP；7—ADP；8—GDP；9—XMP；10—UDP-葡萄糖；11—ADP-核糖；12—UMP；13—CMP；14—AMP；15—GMP

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 40 cm，内径 75 μm，U_{nm}涂层

缓冲溶液：30 mmol·L^{-1} tris-HCl，30 mmol·L^{-1}磷酸盐 pH5.38

进　样：电动进样

电　压：20 kV

检测器：紫外(254nm)

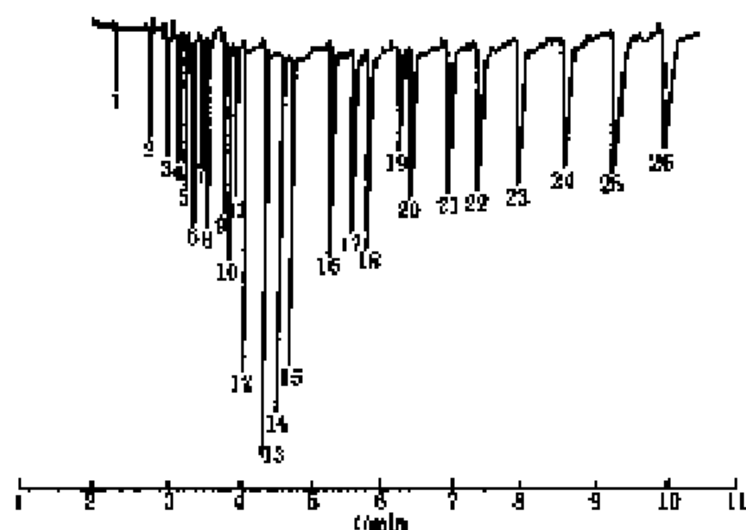


图 15-9 26 种金属离子的电泳分离谱图[8]

色谱峰：1—K^+；2—Ba^{2+}；3—Ca^{2+}；4—Na^+；5—Mg^{2+}；6—Mn^{2+}；7—Fe^{2+}；8—Co^{2+}；9—Ni^{2+}；10—Zn^{2+}；11—Li^+；12—La^{3+}；13—Ce^{3+}；14—Pr^{3+}；15—Nd^{3+}；16—Sm^{3+}；17—Eu^{3+}；18—Gd^{3+}；19—Cu^{2+}；20—Tb^{3+}；21—Dy^{3+}；22—Ho^{3+}；23—Er^{3+}；24—Tm^{3+}；25—Yb^{3+}；26—Lu^{3+}

毛细管柱：柱长 60 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：6 mmol·L^{-1} DBA，4.2 mmol·L^{-1} HIBA，乙酸调至 pH5.0，0.2 mmol·L^{-1} Triton-X

进　样：9.8 cm，5s

电　压：500V·cm^{-1}

检测器：间接紫外(214nm)

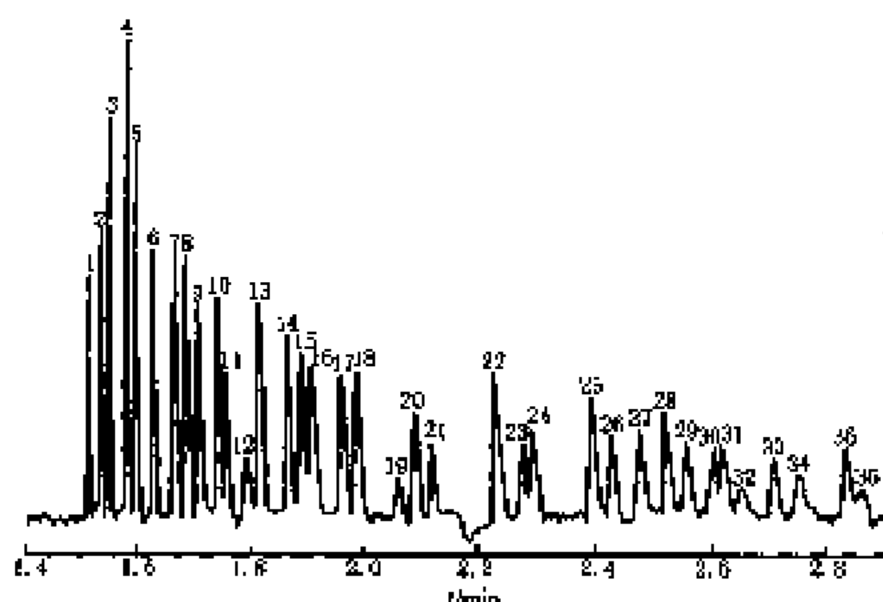


图 15-10 36 种阴离子快速分离谱图

色谱峰：1—硫代硫酸根；2—溴离子；3—氯离子；4—硫酸根；5—亚硝酸根；6—硝酸根；7—钼酸根；8—叠氮离子；9—钨酸根；10—单氟磷酸根；11—氯酸根；12—柠檬酸根；13—氟离子；14—甲酸根；15—磷酸根；16—亚磷酸根；17—亚氯酸根；18—戊二酸根；19—邻苯二甲酸根；20—半乳糖酸根；21—碳酸根；22—乙酸根；23—氯乙酸根；24—乙磺酸根；25—丙酸根；26—丙磺酸根；27—DL-天冬氨酸根；28—丁烯酸根；29—丁酸根；30—丁磺酸根；31—戊酸根；32—苯甲酸根；33—L-谷氨酸根；34—戊磺酸根；35—D-葡萄糖酸根；36—D-半乳糖醛酸根

毛细管柱：有效长度 52 cm，总长度 60 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：5 mmol · L^{-1} Na_2CrO_4，0.4 mmol · L^{-1} OFM，pH8.0

进　样：虹吸进样 30s

温　度：室温

电　压：30 kV

检测器：间接紫外(254nm)

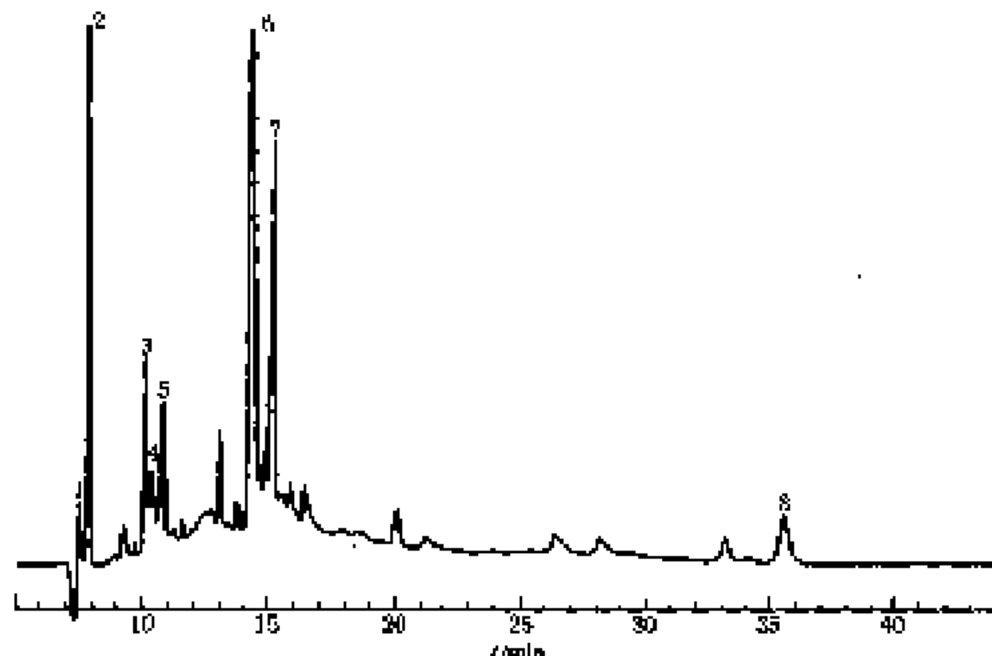


图 15-11 绿茶的电泳分离谱图[11]

色谱峰：1—可可碱；2—咖啡因；3—EGC；4—儿茶素；5—EC；6—EGCG；7—ECG；8—绿原酸

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol · L^{-1}磷酸钠，10%乙醇，pH6.0

进　样：5kPa，15s

温　度：26°C

电　压：30 kV

检测器：紫外(278nm)

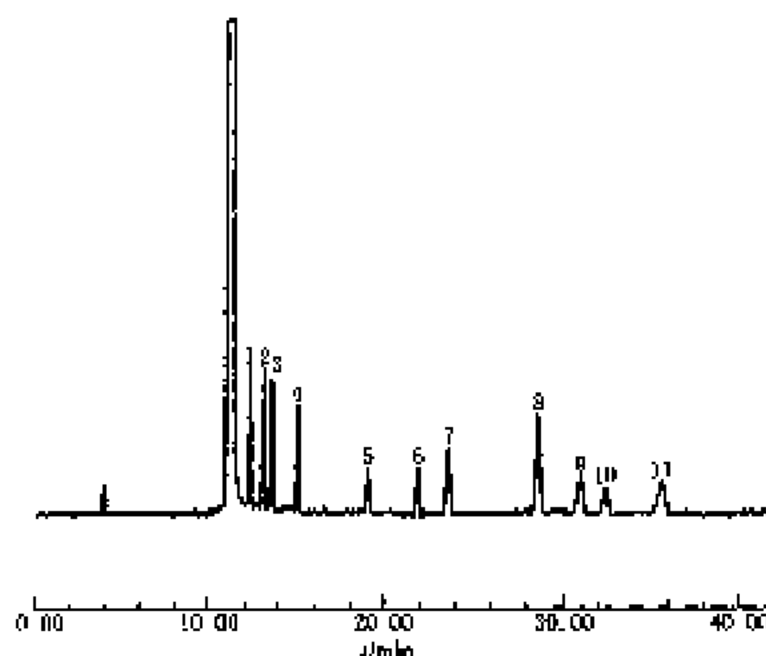


图 15-12 S-(+)-NBD-PyNCS衍生化氨基酸对映体的电泳分离谱图[11]

色谱峰：1—L-Leu；2—D-Leu；3—L-Val；4—D-Val；5—L-Ala；6—D-Ala；7—L-Pro；8—D-Pro，L-Glu；9—L-Asp；10—D-Glu；11—D-Asp

毛细管柱：柱长60 cm，内径50 μm

缓冲溶液：25 mmol·L^{-1}乙酸盐，pH4.0，10 mmol·L^{-1} Triton X-100

进　样：高压3s

电　压：30 kV

检测器：激光诱导荧光（λ_{ex}=488nm，λ_{em}=520nm）

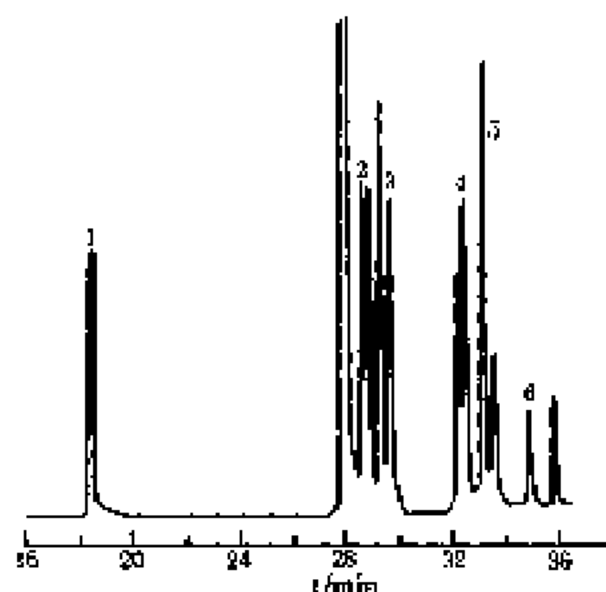


图 15-13 Cy5标记氨基酸的电动手性分离谱图[12]

色谱峰：1—谷氨酸；2—丙氨酸；3—缬氨酸；4—苯丙氨酸；5—酪氨酸；6—色氨酸

毛细管柱：内径50 μm，外径375 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH7.0），1%PVP，30 mmol·L^{-1} γ-CD

进　样：电动进样

电　压：25 kV

检测器：激光诱导荧光

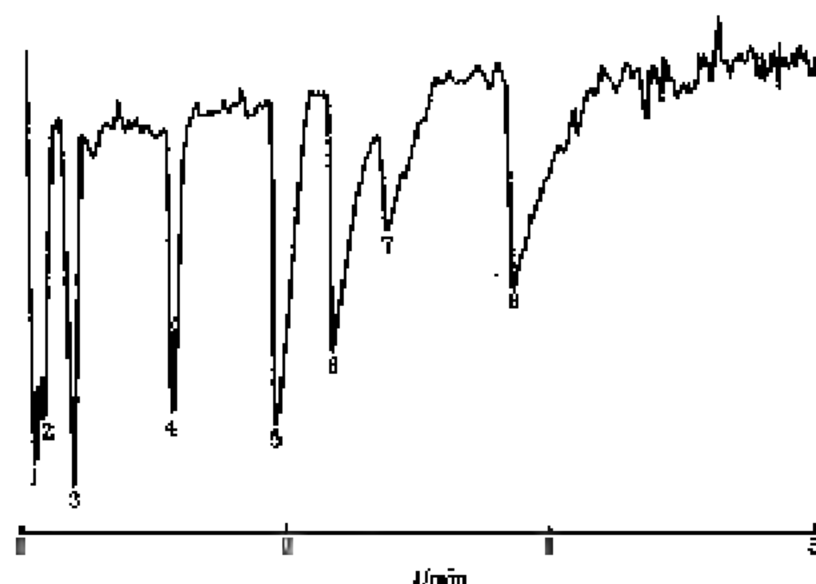


图 15-14　有机酸的 CZE 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—丙酸；2—乙酸；3—抗坏血酸；4—乳酸；5—甲酸；6—柠檬酸；7—苹果酸；8—酒石酸

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 35 cm，内径 75 μm，外径 365 μm

缓冲溶液：5 $mmol \cdot L^{-1}$ 8-羟基-喹啉-5-磺酸 pH3.00

进　样：1 kV，2 s

电　压：20 kV

检测器：间接紫外(280nm)

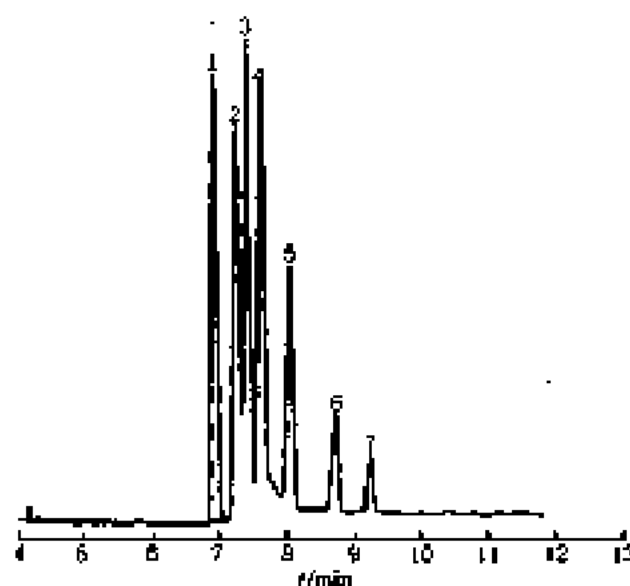


图 15-15　植物酸的 CZE 分离谱图[illegible]

色谱峰：1—绿原酸；2—芥子酸；3—阿魏酸；4—咖啡酸；5—p-香豆酸；6—m-香豆酸；7—o-香豆酸

毛细管柱：柱长 64.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 $mmol \cdot L^{-1}$ Na_3PO_4 (pH7.0)

温　度：40℃

电　压：25 kV

检测器：紫外(280nm)

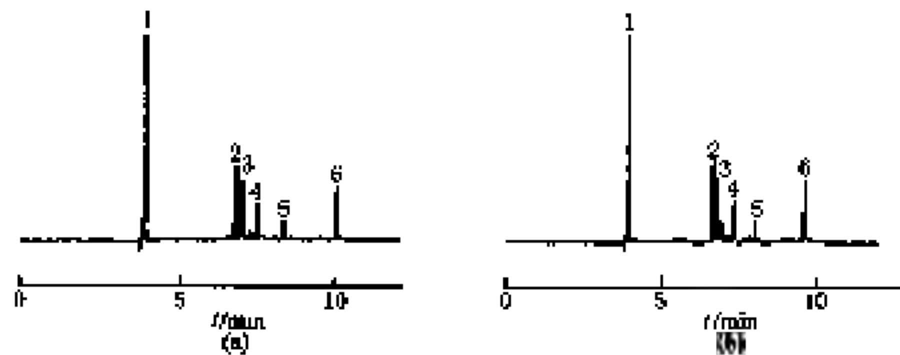


图 15-16 蜂胶水提物的 CZE 分离谱图[16]

色谱峰：1—电渗流标记物；2—3，4-二甲氧基肉桂酸；3—未定物；4—p-香豆酸；5—肉桂酸；6—安息香

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm，检测处 150 μm

缓冲溶液：25 mmol·L⁻¹磷酸盐，pH7.0

进　样：5 kPa，2 s

温　度：30℃

电　压：30 kV

检测器：紫外(200 nm)

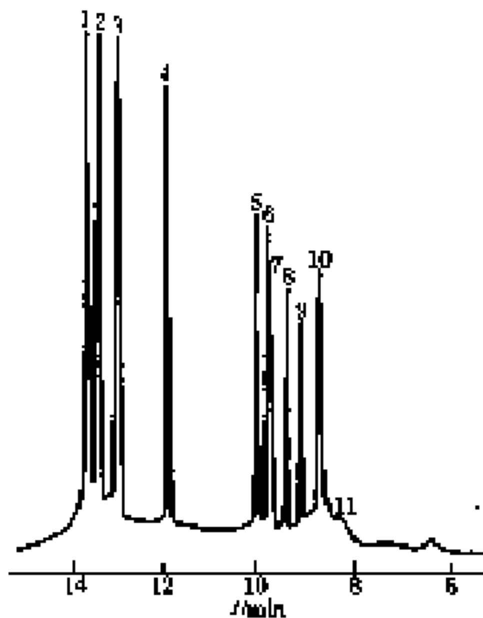


图 15-17 HaeⅢ消化 ΦX174 的 DNA 片段电泳谱图[17]

色谱峰：1—1353bp；2—1078bp；3—872bp；4—603bp；5—310bp；6—281bp；7—271bp；8—234bp；9—194bp；10—118bp；11—72bp

毛细管柱：有效长度 30 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：0.267 mol·L⁻¹ Tris-硼酸，7 mol·L⁻¹尿素，pH8.3

进　样：10 kV，8 s

电　压：8 kV

检测器：紫外(260nm)

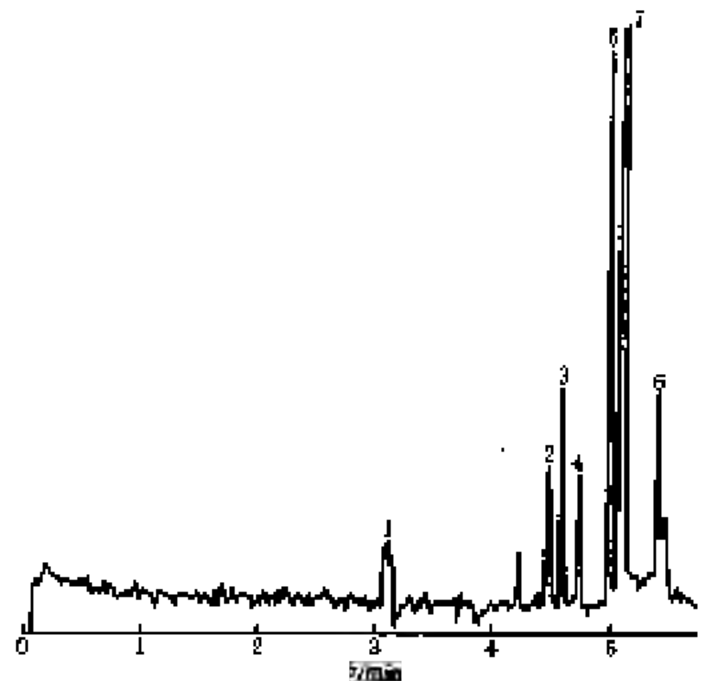


图 15-18 HBSA 衍生化醛的电泳分离谱图[18]

色谱峰：1—电渗流；2—丁醛；3—丙醛；4—乙醛；5—甲醛；6—戊二醛；7—HBSA

毛细管柱：有效柱长 58 cm，总柱长 78 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹硼酸，20 mmol·L⁻¹ NaOH，pH9

进　样：4 kPa，6 s

温　度：20℃

电　压：30 kV

检测器：紫外(280 nm)

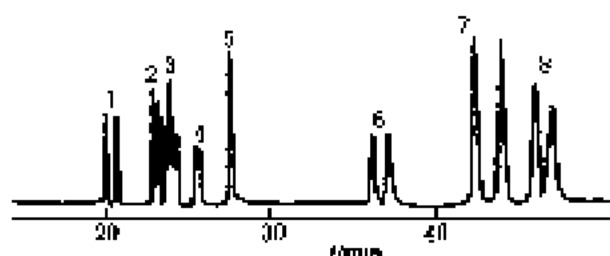


图 15-19 β-受体阻断剂对映体的电泳分离谱图[37]

色谱峰：1—异丙基肾上腺素；2—心得静；3—四氢萘心安；4—氧烯心安；5—乙酰丁心安；6—心得舒；7—心得安；8—烯酰苄心定

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 62 cm，内径 52 μm

缓冲溶液：20 mmol·L^{-1} 羟丙基-β-CD，70 mmol·L^{-1} 氢氧化四甲基铵-磷酸盐 pH2.5

进　样：虹吸进样 5 s

温　度：15℃

电　压：20 kV

检测器：紫外

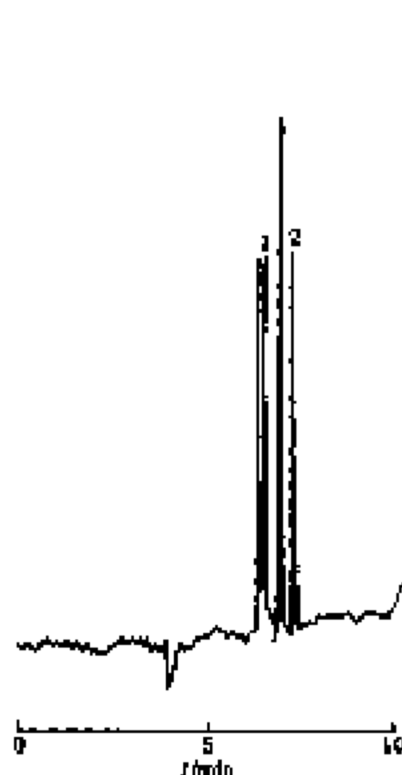


图 15-20 二萘化合物对映体的电泳分离谱图[38]

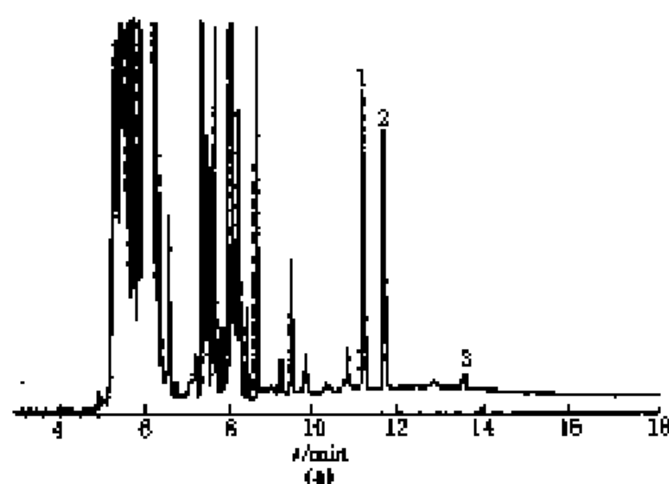
色谱峰：1—2，2'-二羟基-1，1'-二萘；2—1，1'-二萘-2，2'-磷酸氢二酯

毛细管柱：总长度 65 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：100 mmol·L^{-1} 脱氧胆酸钠，10 mmol·L^{-1} 磷酸氢二钠，6 mmol·L^{-1} 硼砂

电　压：20 kV

检测器：紫外(254 nm)



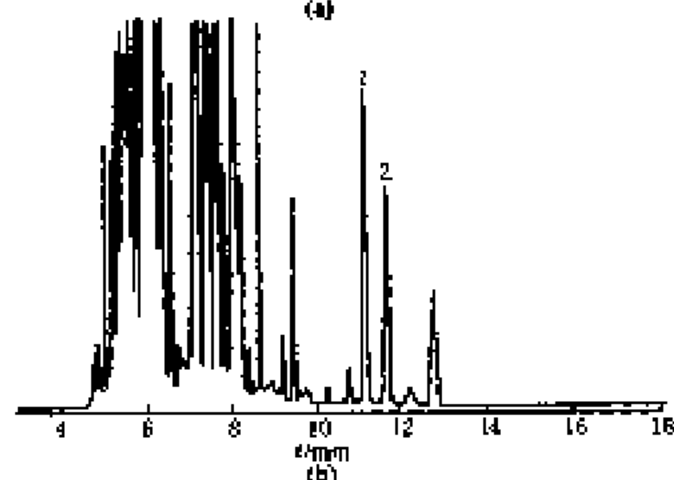


图 15-21 人凝血酶原酸水解产物的电泳分离谱图[39]

色谱峰：1—FTC-Glu，2—FTC-Asp，3—FTC-Gly

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 67 cm，内径 75 μm，外径 375 μm

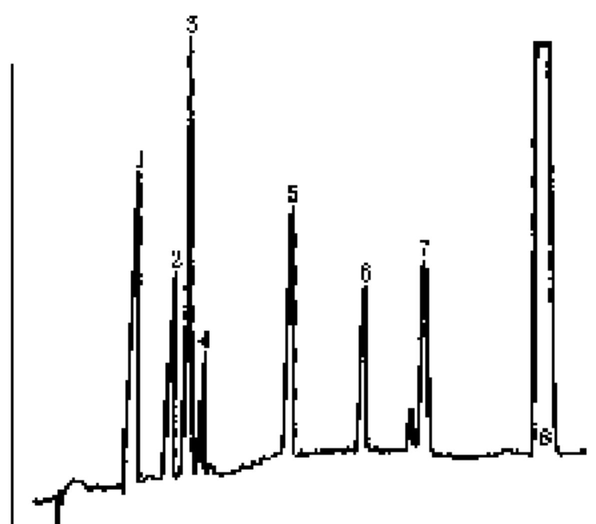
缓冲溶液：100 mmol·L^{-1} Tris

进　样：低压（3447.38 Pa），3 s

温　度：25℃

电　压：30 kV

检测器：激光诱导荧光



色谱峰：1—草酸；2—丙二酸；3—马来酸；4—琥珀酸；5—丙酮酸；6—乳酸；7—3-羟基丁酸；8—马尿酸

毛细管柱：有效柱长 60 cm，总柱长 70 cm，内径 75 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹ 硼砂，0.4 mmol·L⁻¹ Ca^{2+}，1 ml OFM/50 ml 缓冲溶液，pH 10.0

进　样：重力进样

检测器：紫外(186 nm)

图 15-22　8 种有机酸的电泳分离谱图[31]

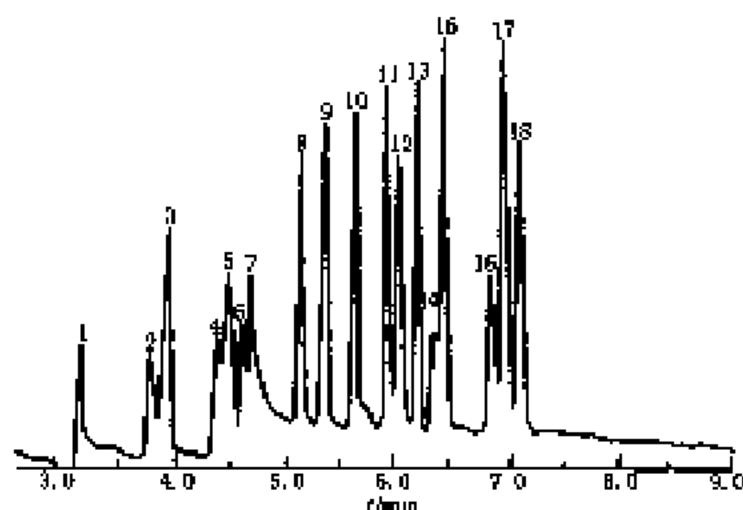


图 15-23　18 种有机酸的电泳分离谱图[30]

色谱峰：1—草酸；2—甲酸；3—富马酸；4—丙酮酸；5—马来酸；6—L-苹果酸；7—柠檬酸；8—D-乳酸；9—琥珀酸；10—DL-天冬氨酸；11—D-葡糖醛酸；12—D-葡糖酸；13—乙酸；14—L-抗坏血酸；15—莽草酸；16—没食子酸；17—丙酸；18—正丁酸

毛细管柱：有效长度 52.4 cm，总长度 60 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：5 mmol·L⁻¹ 对羟基苯甲酸，φ=2.5% OFM，pH 4.75

进　样：虹吸进样 30 s

温　度：25℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(254 nm)

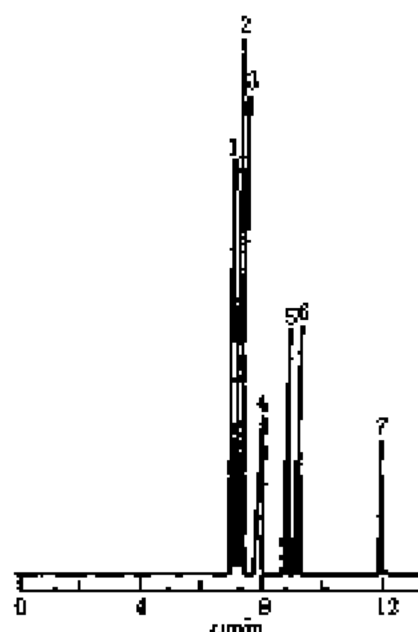


图 15-24　7 种丹酰-DL-氨基酸的电泳分离谱图[34]

色谱峰：1—D-Val；2—L-Val；3—D-Met；4—L-Met；5—D-Phe；6—L-Phe；7—L-Arg

毛细管柱：有效长度 75 cm，总长度 100 cm，内径 75 μm

进　样：压力进样 1 s

电　压：30 kV

检测器：激光诱导荧光

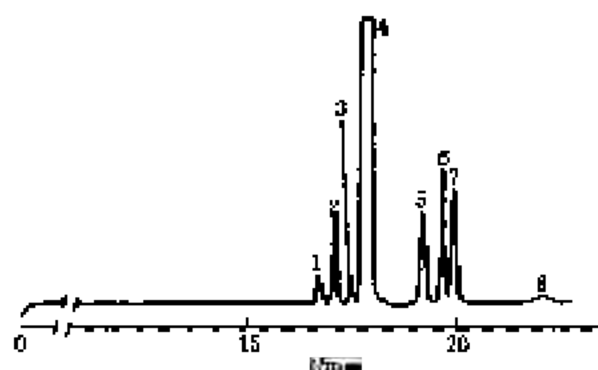


图 15-25 土霉素纯度的电泳分析谱图[35]

色谱峰：1—4-差向土霉素；2—四环素；3—4-差向四环素；4—土霉素；5—α-阿朴土霉素；6—脱水土霉素；7—β-阿朴土霉素；8—terrinolide

毛细管柱：有效长度 62 cm，总长度 70 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹磷酸钠，1 mmol·L⁻¹ EDTA，pH 11.25

进 样：压力进样

温 度：20℃

电 压：12 kV

检测器：紫外(254 nm)

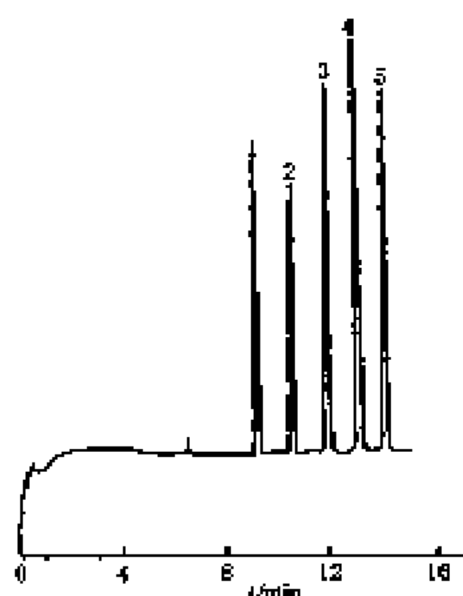


图 15-26 小肽的毛细管电泳分离谱图[36]

色谱峰：1—Gly-Gly；2—Gly-Gly-Gly；3—Gly-Gly-Gly-Gly；4—Gly-Gly-Gly-Gly-Gly；5—Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly

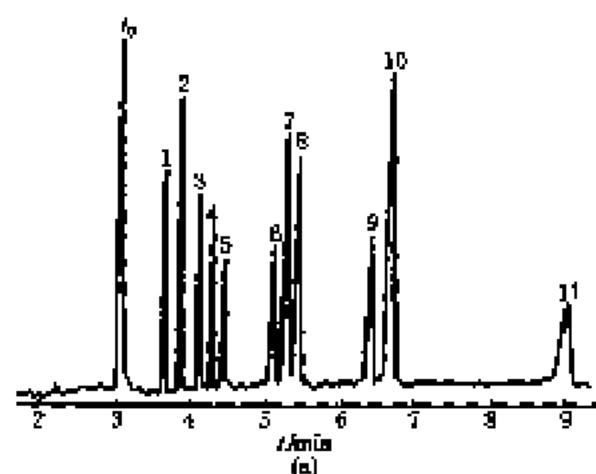
毛细管柱：有效长度 51 cm，总长度 75 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹磷酸盐(pH2.5)

温 度：20℃

电 压：22.2 kV

检测器：紫外(220 nm)



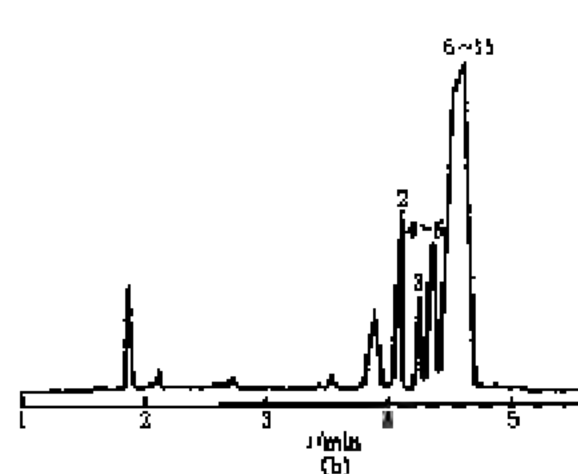


图 15-27 丹酰化生物胺的电泳分离谱图[37]

色谱峰：1—2-氨基乙醇；2—甲胺；3—乙胺；4—吗啉；5—2-氨基丙醇；6—二乙基胺；7—1-氨基-2-甲基丙烷；8—正丁胺；9—1-氨基-3-甲基丁烷；10—正戊胺；11—正己胺

毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 47 cm，内径 75 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：4.1 mmol·L⁻¹硼酸，φ=15%乙腈

进 样：压力，2 s

电 压：25 kV

检测器：UV(254 nm)

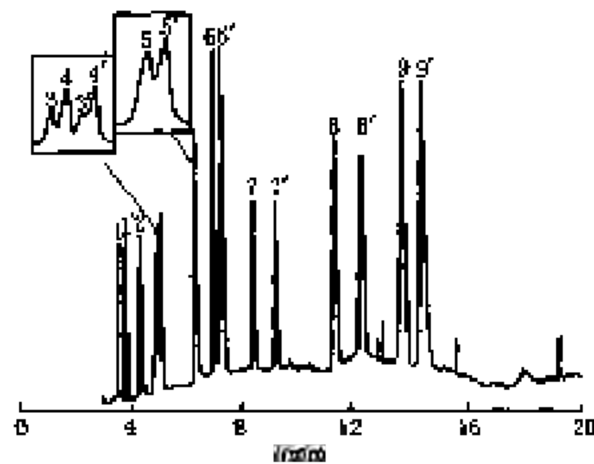


图 15-28　丹磺酰化氨基酸对映体的电泳分离谱图（一）[36]

色谱峰：1—Trp；2—Phe；3—nor-Leu；4—Leu；5—Met；6—nor-Val；7—Val；8—Glu；9—Asp

毛细管柱　有效柱长 20 cm，总柱长 27 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1}磷酸盐，1%β-CD-SBE（Ⅳ），pH8.1

电　压　−10 kV

检测器：紫外(214 nm)

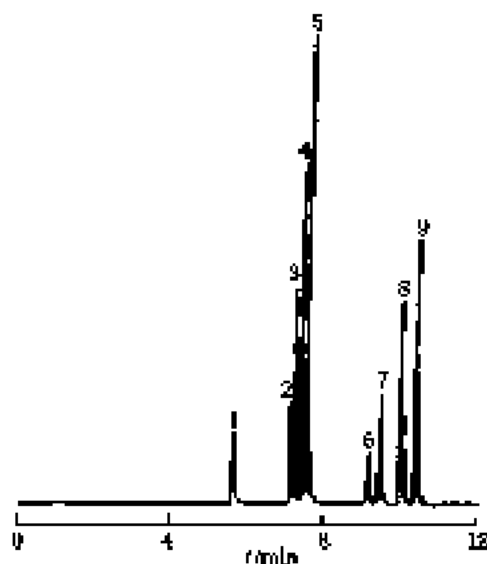


图 15-29　丹磺酰化氨基酸对映体的电泳分离谱图（二）[37]

色谱峰：1—L-Arg(内标)；2—D-Try；3—L-Try；4—D-Val；5—L-Val；6—D-Asp；7—L-Asp；8—D-Glu；9—L-Glu

毛细管柱：有效长度 75 cm，总长度 100 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：2.5 mmol·L^{-1} $CuSO_4$，5.0 mmol·L^{-1}无水哌嗪，10 mmol·L^{-1}乙酸铵，pH7.4

进　样：1 s

电　压：30 kV

检测器：激光诱导荧光

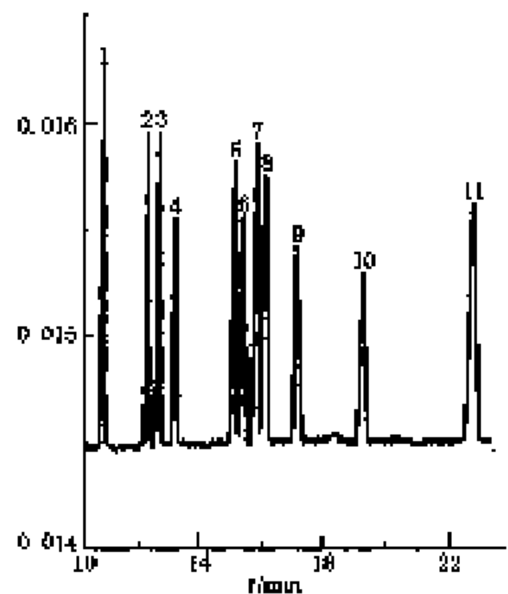


图 15-30　丹磺酰化二肽的电泳分离谱图[38]

色谱峰：1—Dns-Nle；2—Dns-Gly；3—Dns-Ala；4—Dns-Thr；5—Dns-Glu；6—Dns-Ile；7—Dns-Leu；8—Dns-Asn；9—Dns-Pro；10—Dns-Hyp；11—Dns-Tyr

毛细管柱：有效柱长 43 cm，总柱长 60 cm，内径 75 μm，外径 370 μm

缓冲溶液：0.015 mol·L^{-1} TEAA-0.016 mol·L^{-1}乙酸溶于甲醇

进　样：重力，10 cm，5 s

电　压：−20 kV

检测器：紫外(214 nm)

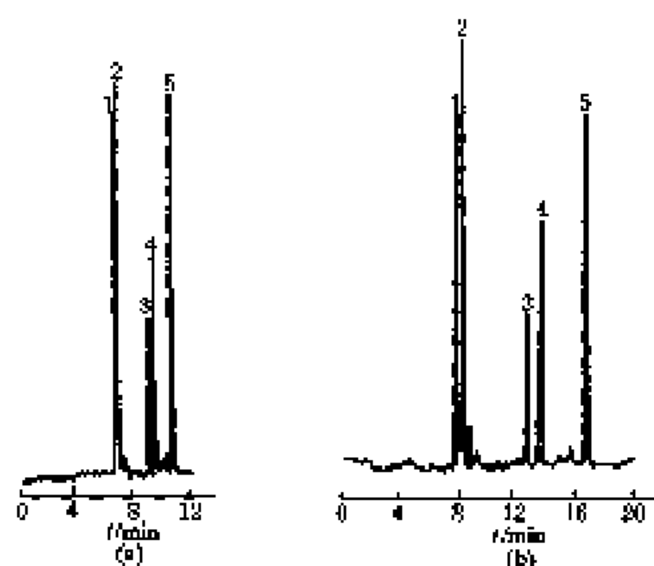


图 15-31　5 种碱性蛋白质的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—溶菌酶；2—细胞色素 C；3—核糖核酸酶；4—α-胰凝乳蛋白酶原；5—肌红蛋白

毛细管柱：有效长度 50 cm，内径 75 μm，BRIJ35 修饰键合毛细管柱

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹磷酸盐 pH7

电　压：场强 300 V·cm⁻¹

检测器：紫外(200 nm)

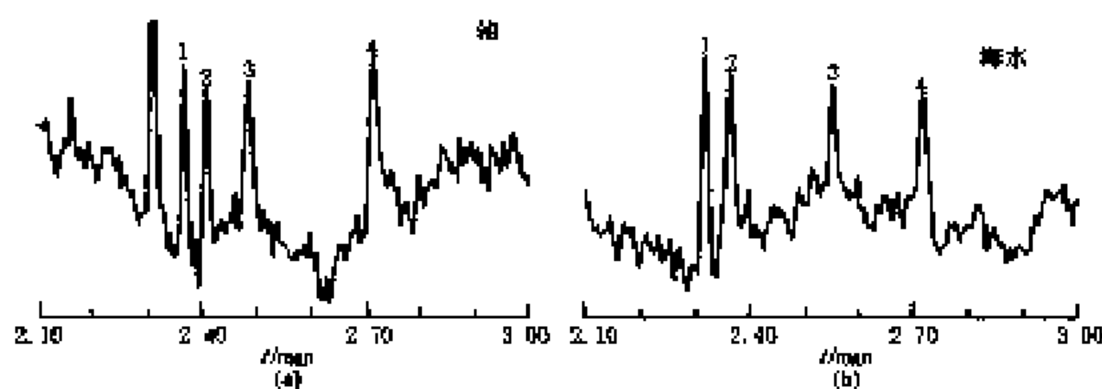


图 15-32　化学战争毒剂降解产物膦化合物的电泳分析谱图[illegible]

色谱峰：1—MPA；2—EMPA；3—IMPA；4—PMPA

毛细管柱：有效柱长 50 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：200 mmol·L⁻¹硼酸盐，100 mmol·L⁻¹苯甲酸，ω=0.05% Triton X-100，pH6.0

进　样：−10 kV 10s

温　度：40

电　压：30 kV

检测器：紫外(210 nm)

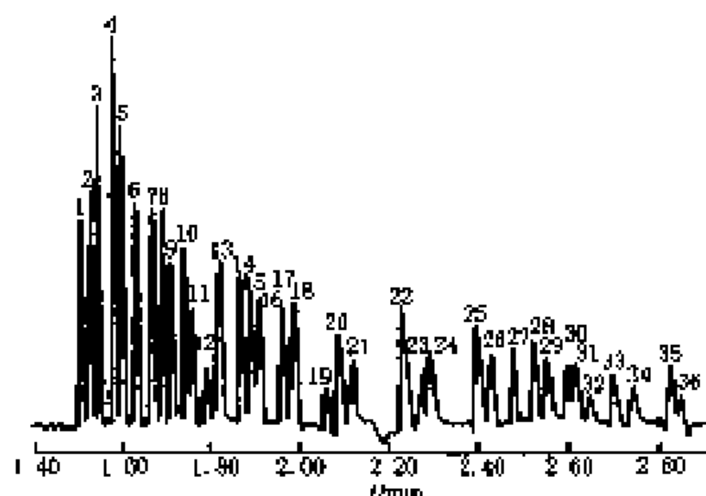


图 15-33 无机阴离子与有机酸的 CZE 分离谱图[illegible]

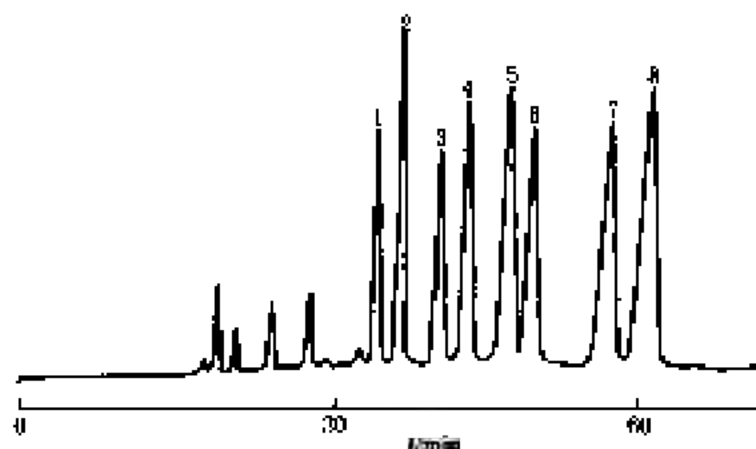
色谱峰：1—$S_2O_3^{2-}$；2—Br^-；3—Cl^-；4—SO_4^{2-}；5—NO_2^-；6—NO_3^-；7—钼酸根；8—叠氮（化物）；9—WO_4^{2-}；10—氟磷酸根；11—ClO_3^-；12—柠檬酸根；13—F^-；14—甲酸根；15—PO_4^{3-}；16—亚磷酸根；17—亚氯酸根；18—戊二酸根；19—邻苯二甲酸根；20—半乳糖二酸根；21~24—未知物；25—丙酸根；26—丙基磺酸根；27—二氯乙酸根；28—巴豆酸根；29—丁酸根；30—丁基磺酸根；31—戊酸根；32—苯甲酸根；33—L-谷氨酸根；34—戊基磺酸根；35—d-葡萄糖酸根；36—d-半乳糖醛酸根

毛细管柱：长度 60 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：5 mmol·L^{-1}铬酸盐+OFM-BT pH8.0

电　压：−30 kV

检测器：间接紫外（254 nm）



色谱峰：1—葡萄糖；2—阿洛糖；3—阿卓糖；4—甘露糖；5—艾杜糖；6—古洛糖；7—塔罗糖；8—半乳糖

毛细管柱：长度 58 cm，内径 50 μm

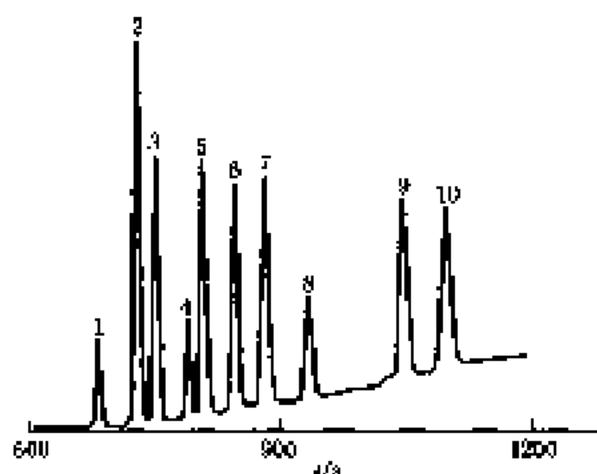
缓冲溶液：200 mmol·L^{-1}硼酸盐 pH9.5

进　样：10 cm，10 s

电　压：15 kV

检测器：紫外（254 nm）

图 15-34 PMP-己醛糖硼酸盐复合物的 CZE 分离谱图[34]



色谱峰：1—邻硝基苯酚；2—2,6-二硝基苯酚；3—2,5-二硝基苯酚；4—对硝基苯酚；5—2,4,6-三硝基苯酚；6—2,4-二硝基苯酚；7—间硝基苯酚；8—对硝基间甲酚；9—3,4-二硝基苯酚；10—4,6-二硝邻甲酚

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 35 cm，内径 100 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1}甘氨酸、BTP 反离子，pH9.1

检测器：UV

图 15-35 硝基苯的 CZE 分离谱图[35]

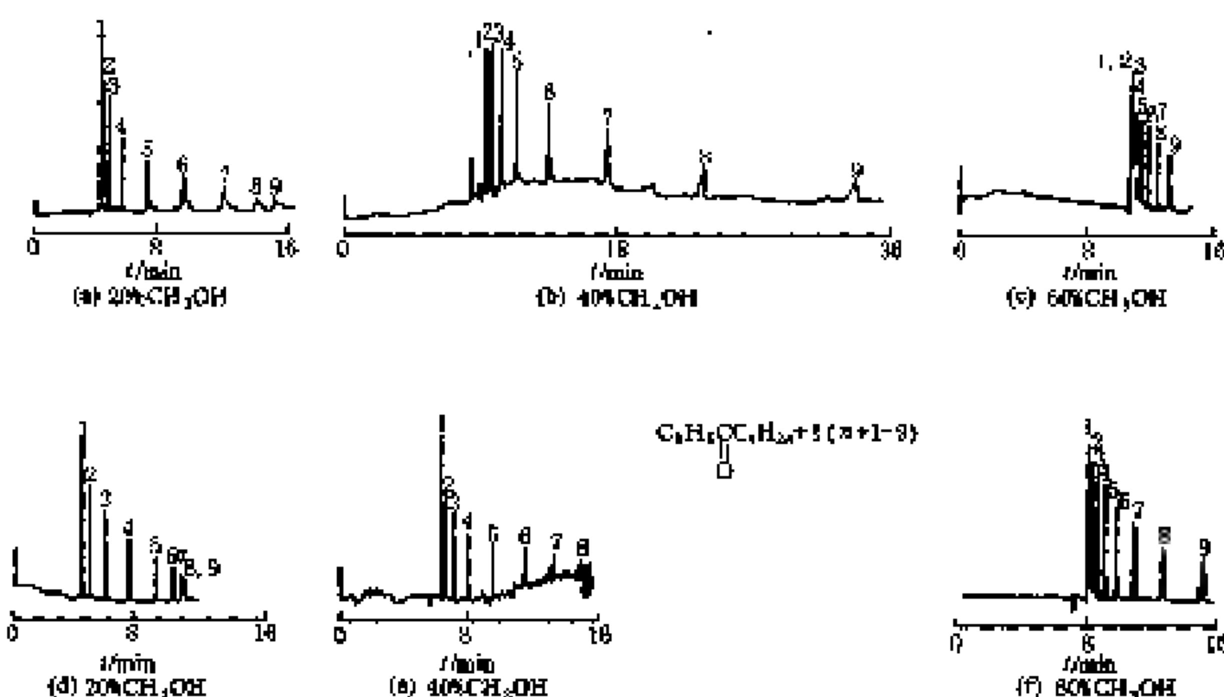


图 15-36 C_6H_5-CO-C_nH_{2n+1}的 CZE 分离谱图[..]

色谱峰：标号代表烷基中碳原子数
毛细管柱：有效柱长 33 cm，总柱长 48 cm，内径 50 μm，外径 375 μm
缓冲溶液：20 mmol·L^{-1}磷酸盐+甲醇（体积比=40：60）
电　压：场强 400 V·cm^{-1}
检测器：紫外(254 nm)

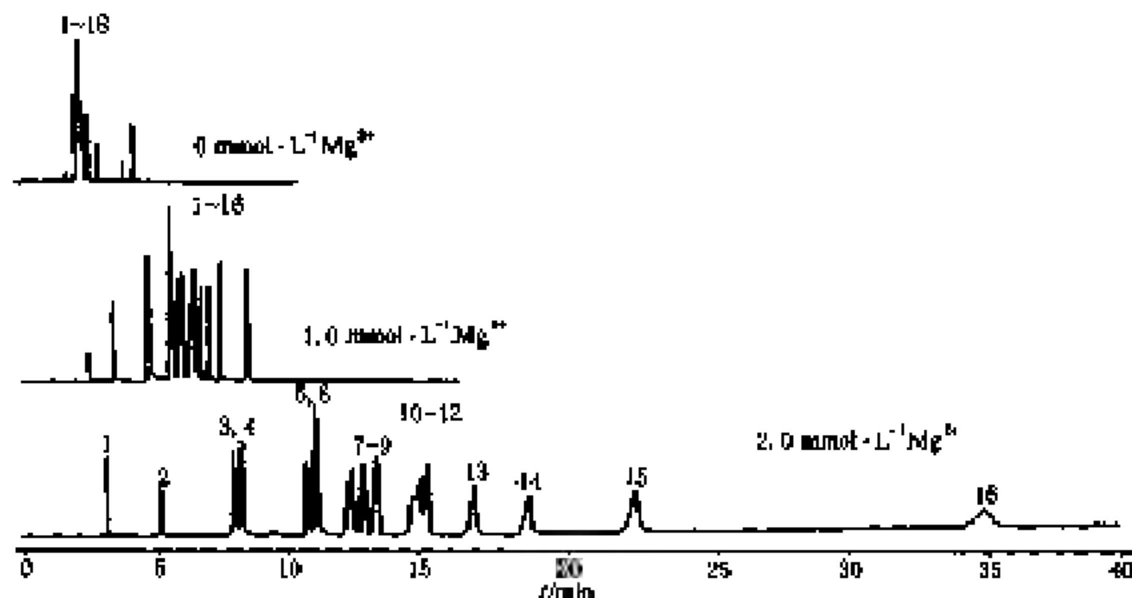
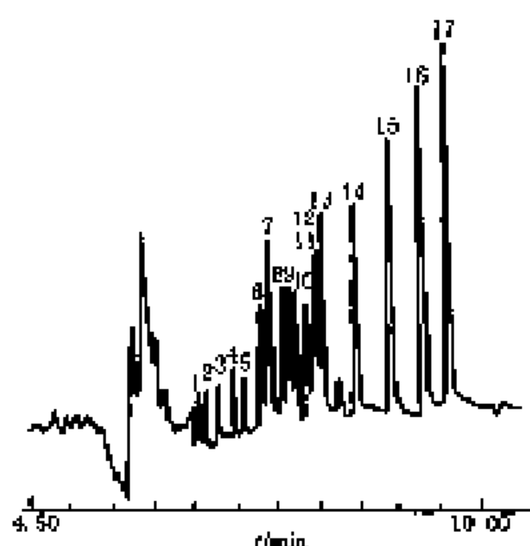


图 15-37　DNP 衍生化氨基酸的电泳分离谱图[..]

色谱峰：1—DNP-L-Arg；2—N-S-DNP-L-Lys；3—N-O-di-DNP-L-Tyr；4—N，N'-di-DNP-L-His；5—N，S，-di-DNP-L-Cys；6—DNP-L-Trp；7—DNP-L-Phe；8—DNP-L-Leu；9—DNP-DL-Met；10—DNP-L-Val；11—DNP-L-Thr；12—DNP-L-Asn；13—DNP-L-Pro；14—DNP-L-Ser；15—DNP-L-Ala；16—DNP-Gly；17—DNP-L-Glu；18—DNP-L-Asp
毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 48 cm，内径 50 μm
缓冲溶液：20 mmol·L^{-1}硼酸盐（pH9.25），2mmol·L^{-1} Mg^{2+}
进　样：重力进样
温　度：25℃
电　压：25 kV
检测器：紫外



色谱峰：1—67bp；2—76bp；3—90bp；4—110bp；5—123bp；6—147bp；7—160bp；8—180bp；9—190bp；10—201bp；11—217bp；12—238bp；13—242bp；14—309bp；15—404bp；16—527bp；17—622bp

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 37 cm，内径 75 μm，聚丙烯酰胺涂层柱

缓冲溶液：6g·L^{-1} HPMC

进　样：压力进样

电　压：12 kV

检测器：紫外(260 nm)

图 15-28　PBR 322/Msp I 的电泳分离谱图[illegible]

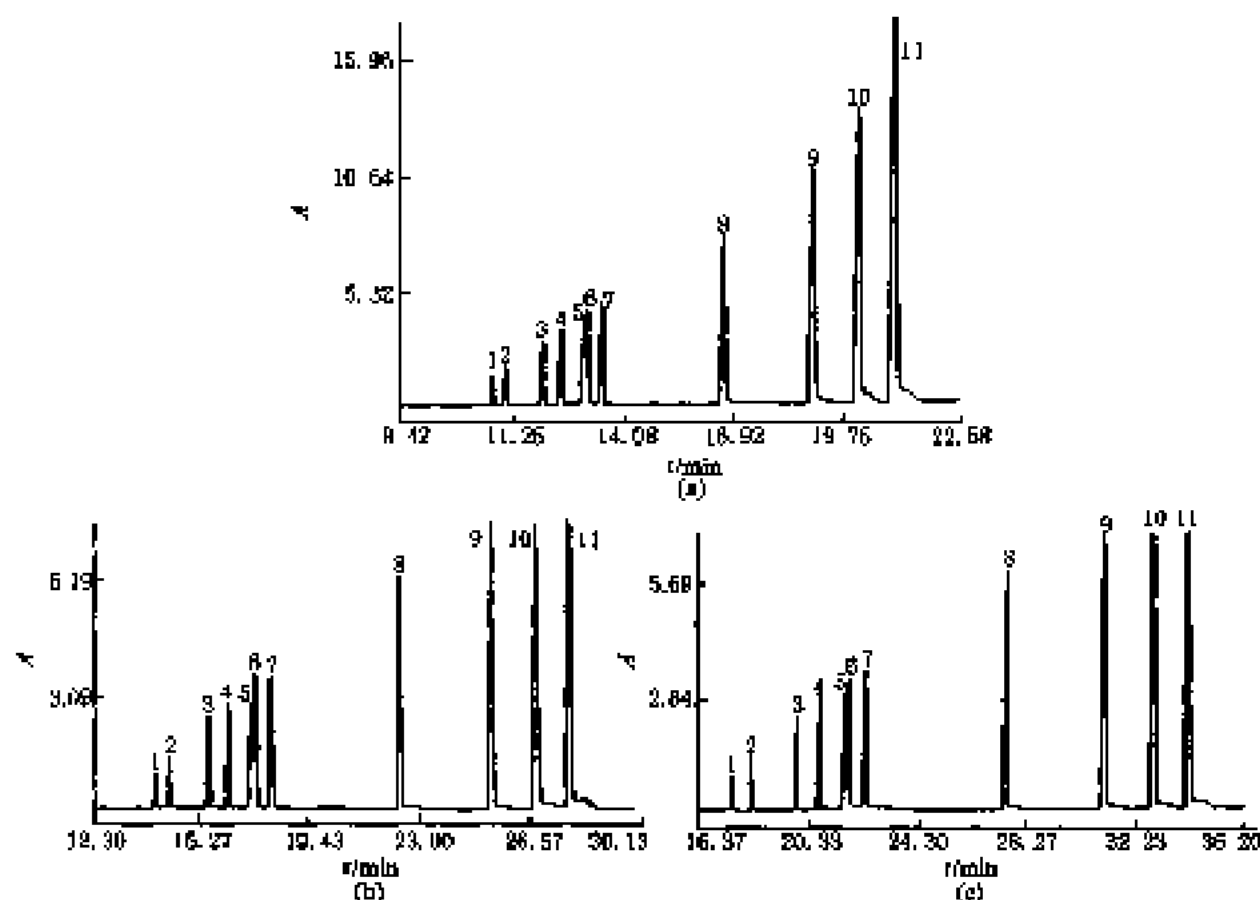


图 15-39　ΦX174/HaeⅢ片段的电泳分离谱图[44]

色谱峰：1—72bp；2—118bp；3—194bp；4—234bp；5—271bp；6—281bp；7—310bp；8—603bp；9—872bp；10—1078bp；11—1353bp

毛细管柱：有效柱长 (a) 20 cm；(b) 30 cm；(c) 40 cm，内径 75 μm，外径 375 μm，聚 AAEE 涂层

缓冲溶液：178 mmol·L^{-1} Tris，178 mmol·L^{-1} 硼酸，4 mmol·L^{-1} EDTA (pH8.3)

进　样：10 kV，2 s

温　度：20℃

电　压：场强 0.90 kV·cm^{-1}

检测器：紫外(260 nm)

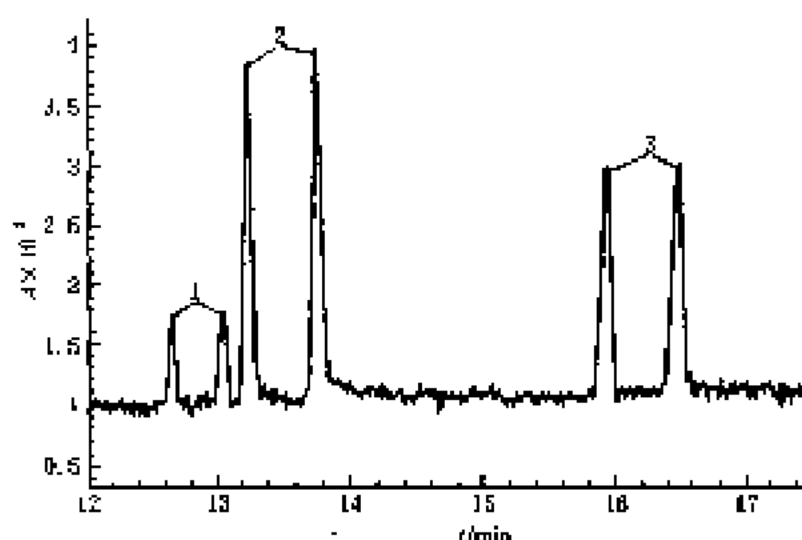


图 15-40 手性药物的电泳分离谱图[40]

色谱峰：1—异丁普生；2—非诺洛芬；3—酮洛芬

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm，检测放大 3 倍

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹磷酸盐-20mmol·L⁻¹三乙醇胺，pH6.0，50 mmol·L⁻¹ tri-OMe-β-CD

进　样：7500 Pa

温　度：55℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(253 nm)

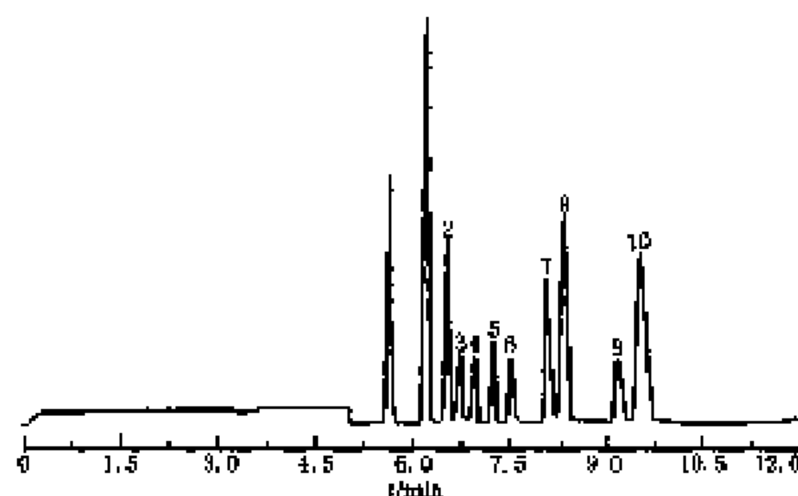


图 15-41 生物碱的电泳分离谱图[41]

色谱峰：1—对氨基苯甲酸，2—咖啡碱，3—降麻黄碱，4—降伪麻黄碱，5—麻黄碱，6—伪麻黄碱，7—苯异丙胺，8—亚甲二氧基苯异丙胺，9—脱氧麻黄碱，10—亚甲二氧基脱氧麻黄碱

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 72 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：0.1%乙醇胺、11% DMSO-89% 0.025 mol·L⁻¹ CTAB-0.01 mol·L⁻¹硼酸钠 pH11.5

进　样：10 kPa·s

温　度：30℃

电　压：15 kV

检测器：紫外(254 nm)

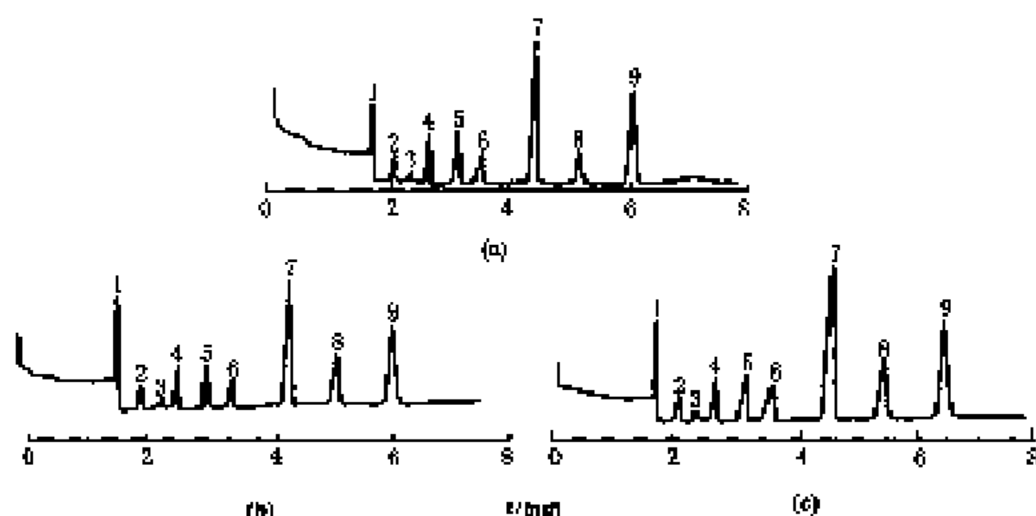


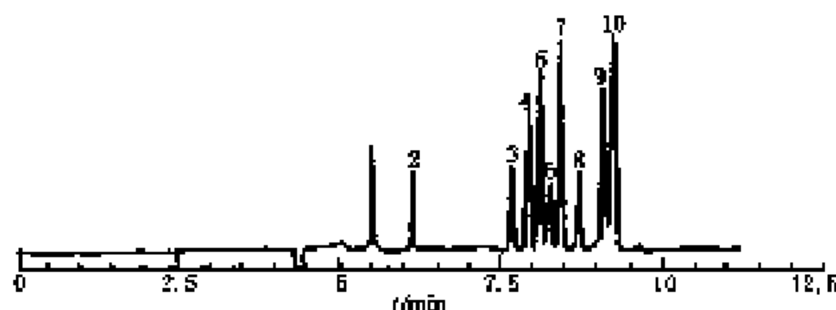
图 15-42 有机酸的电泳分离谱图[42]

色谱峰：1—苯基氧化物；2—p-氨基苯甲酸；3—p-羟基苯甲酸；4—p-甲苯甲酸；5—苯甲酸；6—o-甲基苯甲酸；7—m-硝基苯甲酸；8—p-硝基苯甲酸；9—甲基顺丁烯二酸

毛细管柱：有效柱长 33 cm，总柱长 58 cm，内径 75 μm　　电　压：22 kV

缓冲溶液：1 mmol·L^{-1}硼酸盐缓冲液，pH4.01　　检测器：紫外(226 nm)

进　样：高压 10 s



色谱峰：

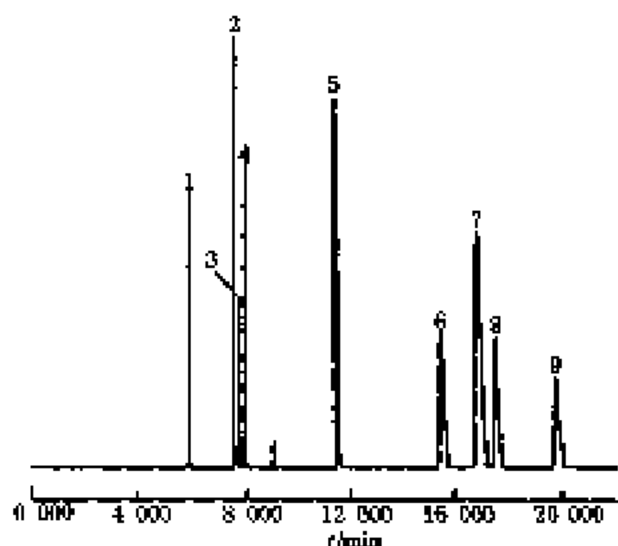
1—苯酚；2—4-氯-3-甲苯酚；3—五氯苯酚；4—2,4,6-三氯苯酚；5—2-甲基-4,6-二硝基苯酚；6—2,4-二氯苯酚；7—2-氯苯酚；8—2,4-二硝基苯酚；9—4-硝基苯酚；10—2-硝基苯酚

图 15-43 酚类的电泳分离谱图[40]

毛细管柱：柱长 64.5 cm，内径 50 μm，检测处 150 μm　　电　压：20 kV

缓冲溶液：20 mmol·L^{-1}硼酸钠 pH9.9　　检测器：紫外(195 nm)

温　度：35℃



色谱峰：1—2-磺酸萘；2—2,7-二磺酸萘；3—1-磺酸萘；4—2,6-二磺酸萘；5—1,6-二磺酸萘；6—1,3-二磺酸萘；7—1,5-二磺酸萘；8—1,7-二磺酸萘；9—1,3,6-三磺酸萘

毛细管柱：有效柱长 60 cm，总柱长 75 cm，内径 50 μm

进　样：3500Pa，(0.1～0.5) min

电　压：25 kV

检测器：紫外(230 nm)

图 15-44 萘磺酸的电泳分离谱图[44]



图 15-45 蛋白质的电泳分离谱图[45]

色谱峰：1—胰岛素A链；2—牛血清白蛋白；3—卵清蛋白；4—胰岛素；5—α-乳清蛋白；6—肌红蛋白；7—胰岛素B链（牛的）

毛细管柱：长度60 cm，内径50 μm，聚丙烯酰胺涂层

缓冲溶液：0.05 mol·L^{-1}谷氨酰胺，三乙胺，pH9.5

进　样：重力进样

电　压：20 kV

检测器：紫外(214 nm)

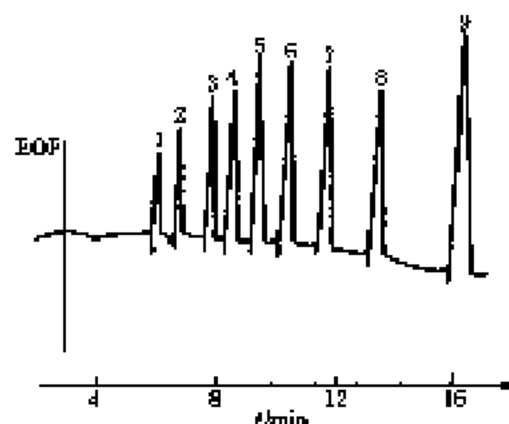


图 15-46 长链饱和脂肪酸的电泳分离谱图[46]

色谱峰：1—十八酸；2—十六酸；3—十四酸；4—十三酸；5—十二酸；6—十一酸；7—癸酸；8—壬酸；9—辛酸

毛细管柱：有效长度33 cm，总长度40 cm，内径50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L^{-1} Tris，10 mmol·L^{-1}对甲氧基苯甲酸，1 mmol·L^{-1}三甲基β-CD，60%甲醇-水

进　样：真空进样1 s

温　度：30℃

电　压：30 kV

检测器：紫外(270 nm)

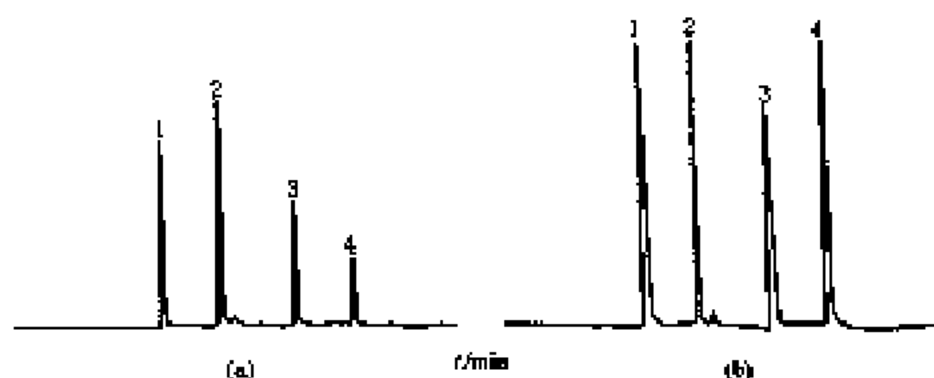


图 15-47 4种碱性蛋白质的电泳分离谱图[47]

色谱峰：1—细胞色素C；2—溶菌酶；3—胰蛋白酶原；4—α-糜蛋白酶原A

毛细管柱：有效长度57 cm，总长度70 cm，内径75 μm，涂层柱

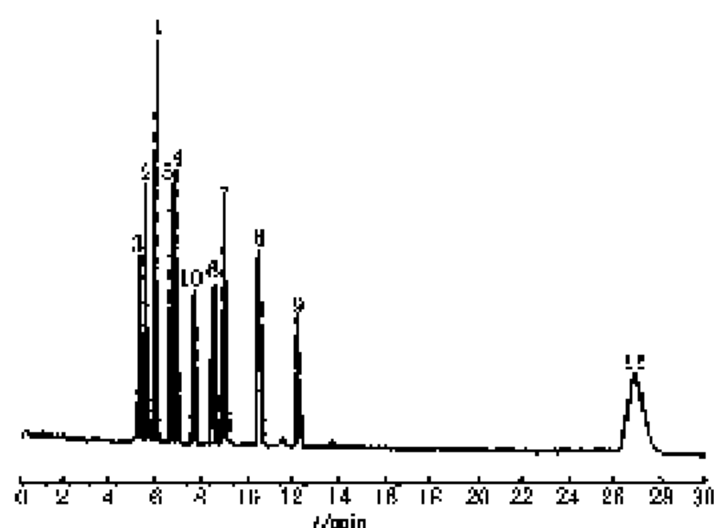
缓冲溶液：20 mmol·L^{-1} Na_3PO_4，30 mmol·L^{-1} NaCl，pH3.0

进　样：电动进样10 kV，5 s

温　度：20℃

电　压：20 kV

检测器：紫外（200 nm）



色谱峰：1—1，3，5-三羧酸苯；2—1，2，4，5-四羧酸苯；3—1，3-二磺酸苯；4—1，2，4-三羧酸苯；5—4，5-二羟基-1，3-二磺酸苯；6—对苯二酸；7—异苯二酸；8—1，2，3-三羧酸苯；9—苯二酸；10—1，2-磺酸苯；11—苯磺酸

毛细管柱：有效长度 38 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：220 mmol·L⁻¹硼酸盐 20 mmol·L⁻¹磷酸盐 pH8.5

进　样：40 s

电　压：－10 kV

检测器：紫外(214 nm)

图 15-49　有机阴离子的电泳分离谱图[45]

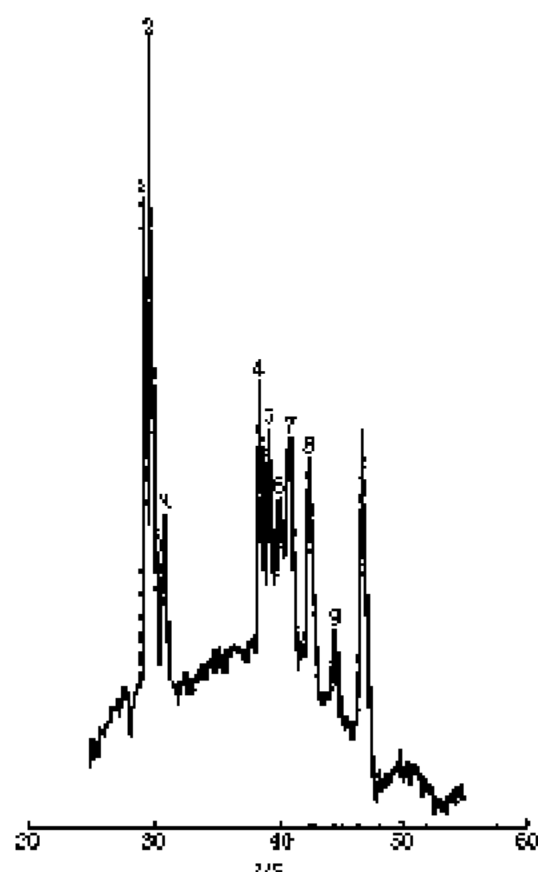


图 15-48　未衍生化糖的电泳快速分析谱图[44]

色谱峰：1—葡萄糖醛酸；2—半乳糖醛酸；3—葡糖酸；4—甘露糖；5—鼠李糖；6—葡萄糖；7—半乳糖；8—2-脱氧 D-核糖；9—棉子糖

毛细管柱：有效柱长 7.5 cm，总柱长 50 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：6 mmol·L⁻¹山梨酸盐，0.001% HDB (pH12.2)

进　样：压力 5 cm，1 s

电　压：20 kV

检测器：间接紫外(254 nm)

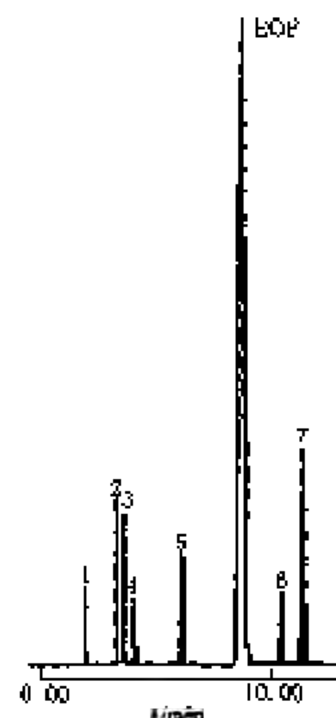


图 15-50　米帕明类药物的非水电泳分离谱图[50]

色谱峰：1—甲基米帕明；2—米帕明；3—去甲基米帕明；4—去二甲基米帕明；5—N-氧基米帕明；6—苯甲酸；7—托芬那酸

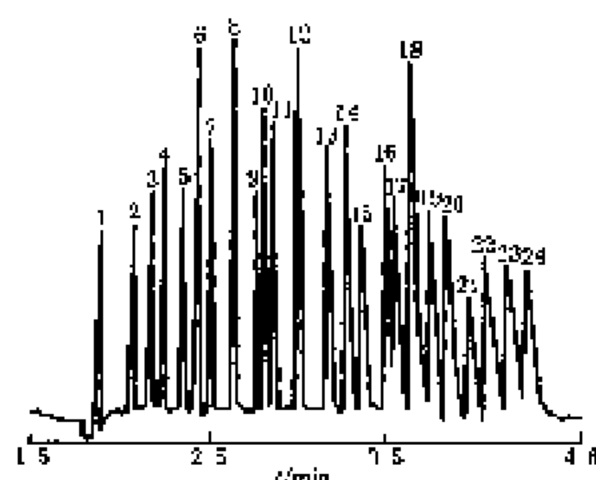
毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 47 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：25 mmol·L⁻¹乙酸铵，1 mol·L⁻¹乙酸溶于甲醇

温　度：25℃

电　压：30 kV

检测器：紫外(214 nm)



色谱峰：1—K^+，2—Ba^{2+}，3—Sr^{2+}，4—Ca^{2+}，5—Mg^{2+}，6—Mn^{2+}，7—Cd^{2+}，8—Co^{2+}，9—Pb^{2+}，10—Ni^{2+}，11—Zn^{2+}，12—La^{3+}，13—Ce^{3+}，14—Pr^{3+}，15—Nd^{3+}，16—Sm^{3+}，17—Gd^{3+}，18—Cu^{2+}，19—Dy^{3+}，20—Ho^{3+}，21—Er^{3+}，22—Tm^{3+}，23—Yb^{3+}，24—Lu^{3+}

毛细管柱：长度36.5 cm，内径75 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1}甲基苄胺，15 mmol·L^{-1}乳酸，pH4.3

电　压：30 kV

检测器：间接紫外(214 nm)

图 15-51　阳离子电泳分离谱图[91]

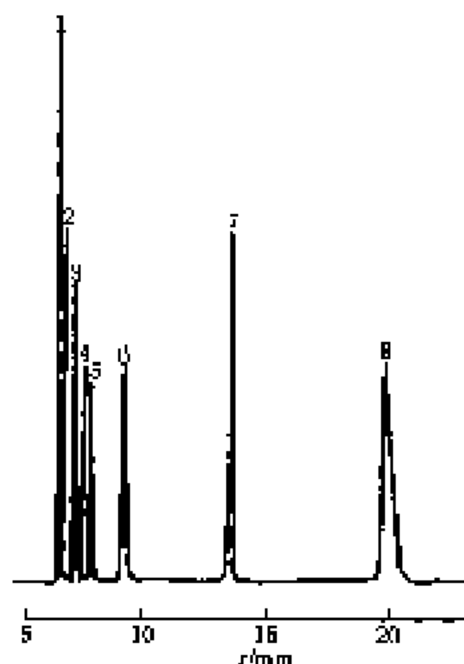


图 15-52　芳香酸的电泳分离谱图[92]

色谱峰：1—反-肉桂酸；2—阿魏酸；3—苯酸；4—苯甲酸；5—对羟基苯甲酸；6—咖啡酸；7—邻苯二甲酸；8—苯三甲酸

毛细管柱：有效长度53 cm，总长度61 cm，内径75 μm

缓冲溶液：8 mmol·L^{-1}硼砂，2 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4，乙醇(φ=30%)，pH9.64

进　样：压力进样

电　压：30 kV

检测器：紫外(210 nm)

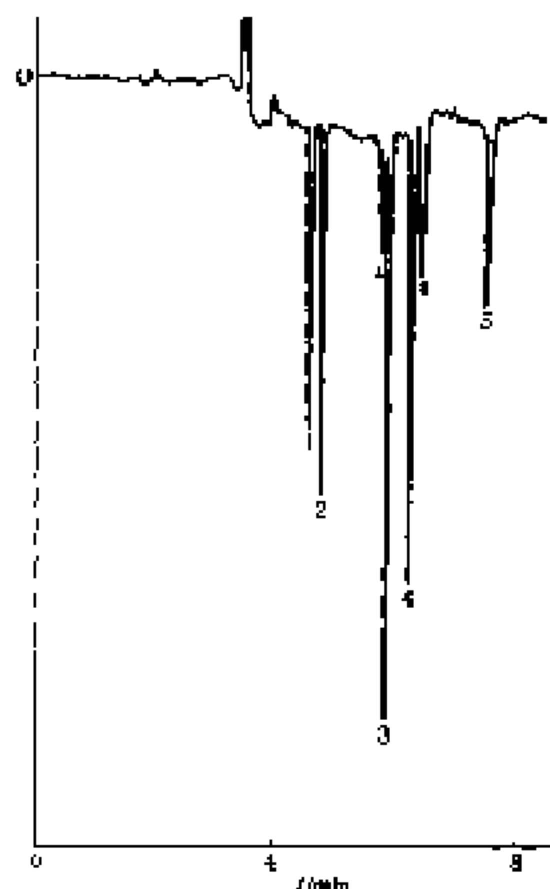


图 15-53　*5种砷化物的电泳分离谱图[93]

色谱峰：1—As(Ⅲ)，2—DMA，3—phA，4—MMA，5—As(Ⅴ)

毛细管柱：有效柱长65 cm，总柱长80 cm，内径50 μm

缓冲溶液：1.5 mmol·L^{-1}荧光素，pH9.8

进　样：15 kV，2 s

电　压：16 kV

检测器：激光诱导荧光 (λ_{ex}=488 nm，λ_{em}=520 nm)

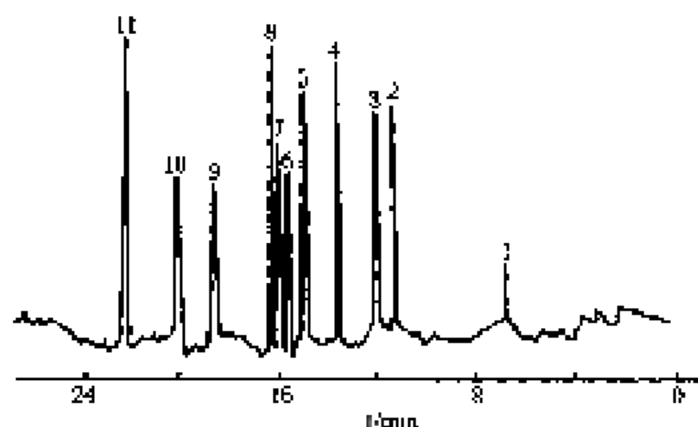


图 15-54 单糖及其α-萘胺衍生物的电泳分离谱图

色谱峰：1—α-萘胺；2—N-乙酰半乳糖胺；3—鼠李糖；4—木糖；5—N-乙酰葡萄糖胺；6—葡萄糖；7—甘露糖；8—阿拉伯糖；9—岩藻糖；10—半乳糖；11—β-吲哚乙酸

毛细管柱：有效长度55 cm，总长度57 cm，内径25 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹硼酸 pH10.5

进样：虹吸进样8 cm，10 s

温度：25℃

电压：20 kV

检测器：紫外(306 nm)

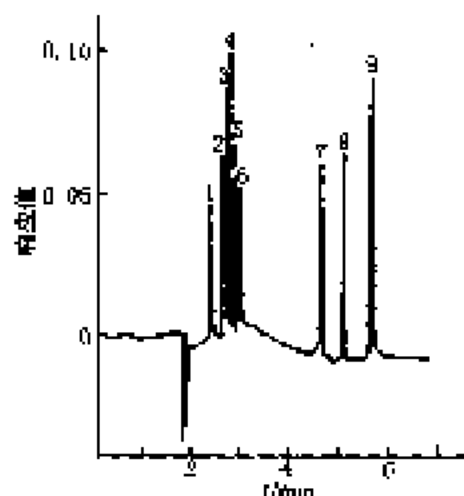


图 15-55 单糖的电泳分离谱图（一）

色谱峰：1—D-岩藻糖；2—D-半乳糖；3—D-葡萄糖；4—L-鼠李糖；5—D-核糖；6—D-甘露糖；7—N-乙酰葡糖胺；8—N-乙酰胞壁酸；9—D-葡糖醛酸

毛细管柱：有效长度45 cm，总长度73 cm，内径50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹ β-吲哚乙酸-5 mmol·L⁻¹ Na_2HPO_4 pH12.31

进样：分流进样，分流比=1：970

电压：30 kV

检测器：紫外(254 nm)

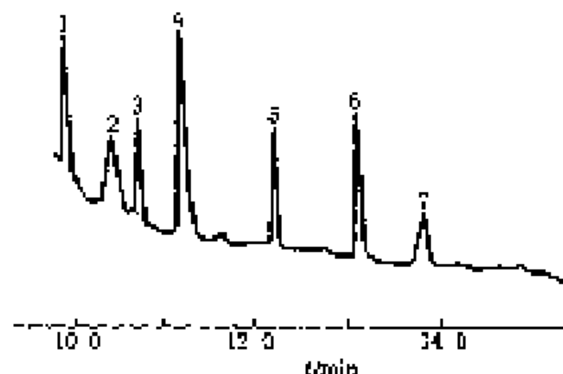


图 15-56 单糖的电泳分离谱图（二）

色谱峰：1—鼠李糖；2—岩藻糖；3—甘露糖；4—氨基葡萄糖；5—乙酰氨基半乳糖；6—氨基半乳糖；7—木糖

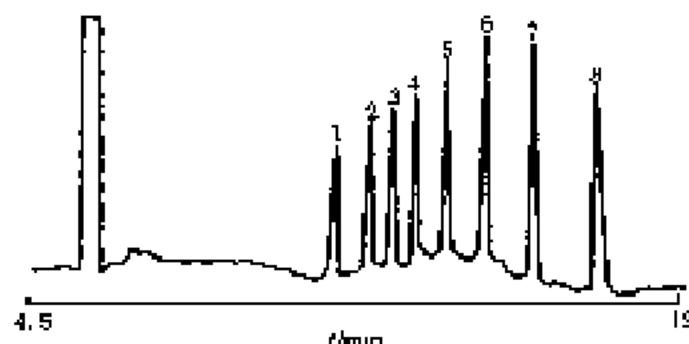
毛细管柱：有效长度70 cm，内径50 μm

缓冲溶液：120 mmol·L⁻¹硼砂，pH10.2

温度：28℃

电压：20 kV

检测器：荧光检测



色谱峰：1—C_{12}-磺酸根；2—C_{10}-磺酸根；3—C_9-磺酸根；4—C_8-磺酸根；5—C_7-磺酸根；6—C_6-磺酸根；7—C_5-磺酸根；8—C_4-磺酸根

毛细管柱：有效长度52 cm，总长度60 cm，内径75 μm

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹萘磺酸用100 mmol·L⁻¹ NaOH调至pH10.0，20%乙腈

进样：虹吸进样40 s

温度：室温

电压：30 kV

检测器：紫外(254 nm)

图 15-57 直链烷基磺酸盐的电泳分析谱图

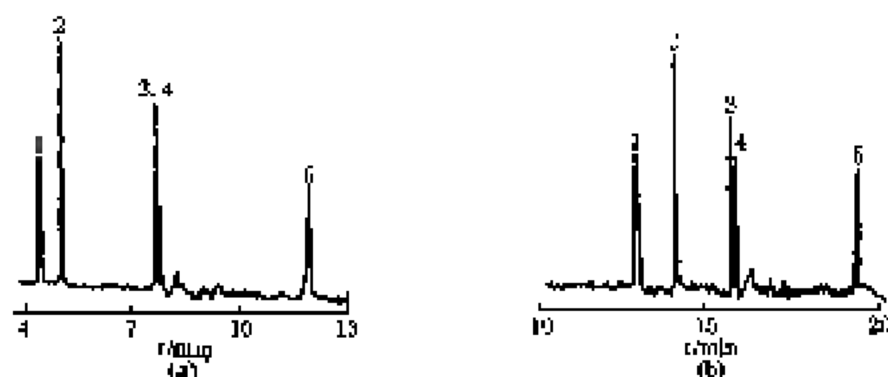


图 15-58　肽的毛细管电泳分离谱图[50]

色谱峰：1—舒缓激肽，2—促黄体激素，3—[Val^5]-血管紧张肽Ⅱ，4—血管紧张肽Ⅱ，5—血管紧张肽Ⅰ

毛细管柱：有效长度 70 cm，内径 17 μm，内壁键合五氟苯基

缓冲溶液：0.25 mol·L^{-1}磷酸盐，0.08 mol·L^{-1}八烷基磺酸钠，pH7.0

电　压：电场强度 250 V·cm^{-1}

检测器：紫外(210 nm)

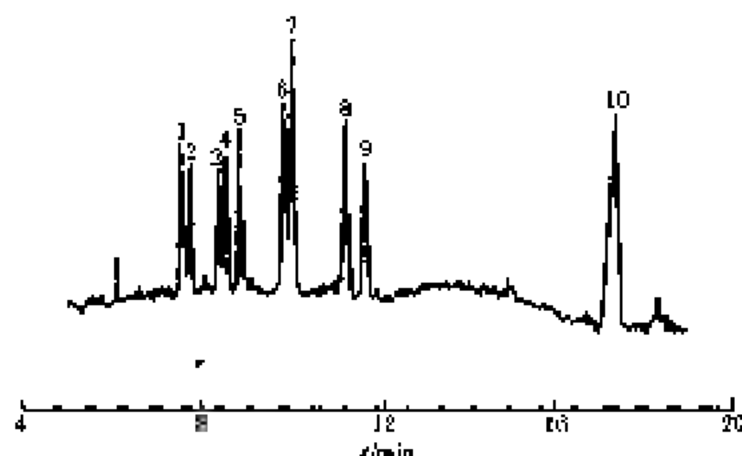


图 15-59　苯甲酸及氟代苯甲酸的电泳分离谱图[51]

色谱峰：1—2，3，5-三氟代苯甲酸；2—2，4，5-三氟代苯甲酸；3—2，4，6-三氟代苯甲酸；4—2，3，6-三氟代苯甲酸；5—2，5-二氟代苯甲酸；6—4-氟代苯甲酸；7—3-氟代苯甲酸；8—2，6-二氟代苯甲酸；9—2-氟代苯甲酸；10—苯甲酸

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 37 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1}磷酸盐，10% β-CD-SBE（Ⅳ）pH3.1

电　压：−10 kV

检测器：紫外(214 nm)

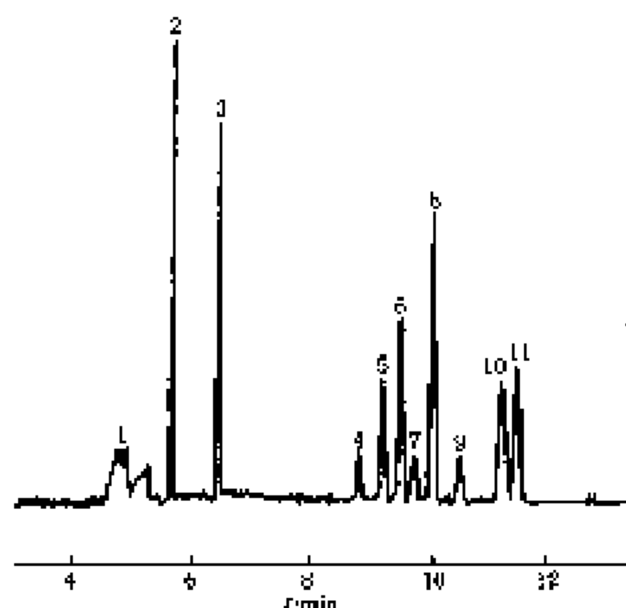


图 15-60　苯甲酸类化合物的电泳梯度分离谱图

色谱峰：1—2，4-二甲基苯酚；2—苯酚；3—4-氨-3-甲基苯甲酸；4—五氟苯甲酸；5—2，4，6-三氟苯甲酸；6—2-甲基-4，6-二氟苯甲酸；7—2，4-二氟苯甲酸；8—2-氟苯甲酸；9—2，4-二硝基苯甲酸；10—4-硝基苯甲酸；11—3-硝基苯甲酸

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：20 mmol·L^{-1}硼酸盐，pH=9.9±0.1

进　样：5 kPa，10 s

温　度：35℃

电　压：20 kV 5 min，(5~7)min 降至 7.5 kV 保持 15 kV

检测器：紫外(220 nm)

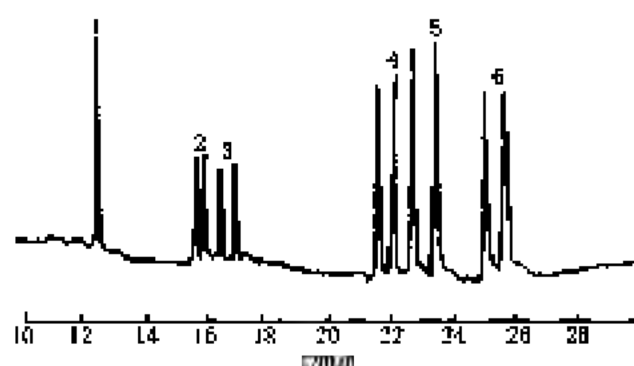


图 15-61　苯基丙胺类化合物手性分离的电泳谱图

色谱峰：1—苯乙胺(内标)；2—苯异丙胺；3—N-甲基苯异丙胺；4—3，4-亚甲基二氧苯异丙胺；5—3，4-亚甲基二氧 N-甲基苯异丙胺；6—4，4-亚甲基二氧 N-乙基苯异丙胺

毛细管柱：有效长度 58 cm，总长度 65 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L^{-1} HP-β-CD

进　样：压力进样

温　度：15℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(200 nm)

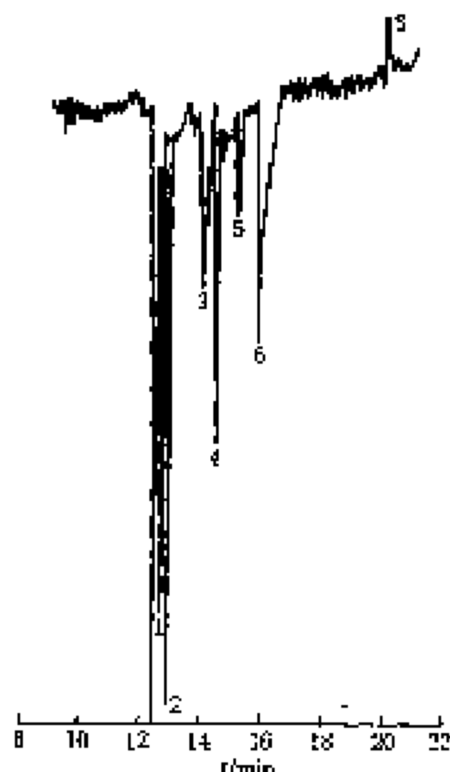


图 15-62 非电活性的氨基酸和二肽间接安培法检测CZE谱图[?]

色谱峰：1—精氨酸(8.5fmol)；2—赖氨酸(8.2fmol)；3—组氨酸(7.4fmol)；4—精氨酸-苯氨酸(7.0fmol)；5—组氨酸-甘氨酸(6.4fmol)；6—组氨酸-苯丙氨酸(3.8fmol)；S—系统峰；DHBA—二羟苄胺

毛细管柱：97 cm×9μm，检测毛细管1.0 cm

缓冲溶液：25 mmol·L⁻¹ 2-[N-吗啉]乙磺酸，0.01 mmol DHBA，pH5.65

电　压：20 kV

检测器：间接安培法检测

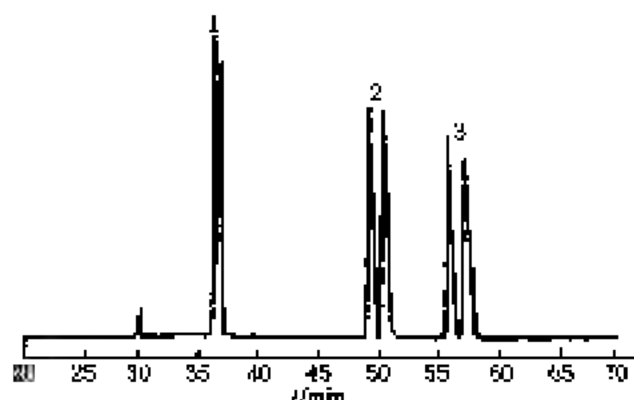


图 15-63 非拉明类化合物手性分离电泳谱图[?]

色谱峰：1—L,D-非拉明；2—L,D-氯代非拉明；3—L,D-溴代非拉明

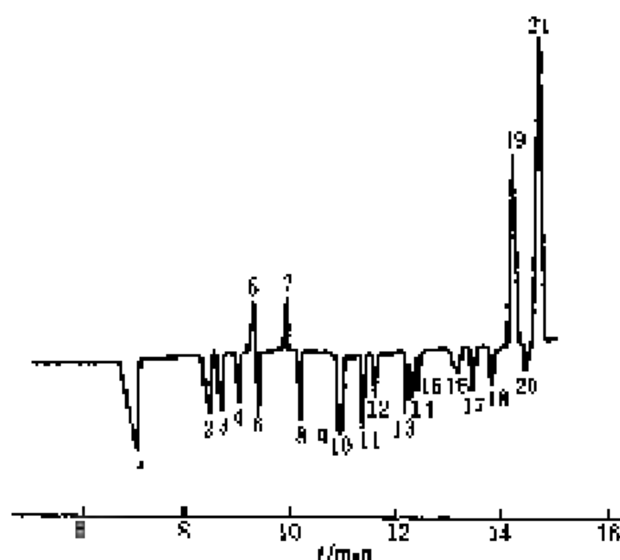
毛细管柱：有效长度50 cm，内径50 μm

缓冲溶液：100 mmol·L⁻¹磷酸钠盐，50 mmol·L⁻¹ β-CD，5 mol·L⁻¹尿素，pH2.5

进　样：真空进样7.5 s

电　压：208 V·cm⁻¹

检测器：紫外(206 nm)



色谱峰：1—氨；2—甲胺；3—1,3-二胺基丙烷；4—1,4-丁二胺；5—组胺；6—1,5-戊二胺；7—氨基丁胺；8—乙胺；9—乙醇胺；10—苯甲胺；11—正丙胺，吗啉；12—异丙胺；13—二乙胺；14—丁胺；15—仲丁胺，异丁胺；16—正戊胺，异戊胺；17—1-甲基丁胺；18—己胺；19—苯乙胺；20—庚胺；21—酪胺

毛细管柱：有效柱长5? cm，总柱长65 cm，内径75 μm，外径375 μm

缓冲溶液：4 mmol·L⁻¹ $Cu_3(PO_4)_2$，4 mmol·L⁻¹甲醛，4 mmol·L⁻¹ 18-冠醚-6，pH3.0

进　样：7 kV 10 s

温　度：20℃

电　压：10 kV

检测器：紫外(210 nm)

图 15-64 标准苯胺类化合物的电泳分离谱图[?]

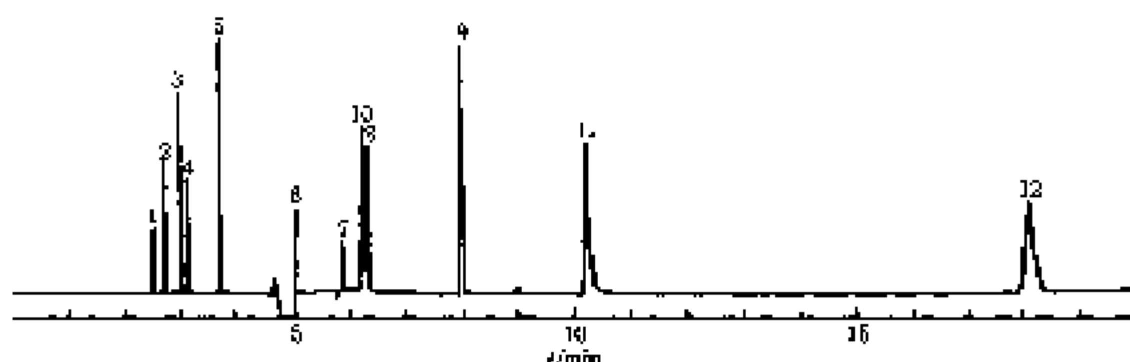


图 15-65 药物混合物的电泳分离谱图[?]

色谱峰：1—苯丙胺；2—麻黄碱；3—左啡诺；4—右吗拉胺；5—吗啡；6—氢氯噻嗪；7—苯甲酸；8—内消旋-2,3-二苯基琥珀酸；9—4-(二丙基氨磺酰基)苯甲酸；10—[illegible]；11—1,2-苯二乙酸；12—依他尼酸

毛细管柱：有效长度 60 cm，总长度 68.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：甲醇-乙腈-乙酸（体积比=50:49:1），20mmol·L⁻¹乙酸铵

进　样：5 kPa 3s

温　度：22℃

电　压：30 kV

检测器：紫外(214 nm)

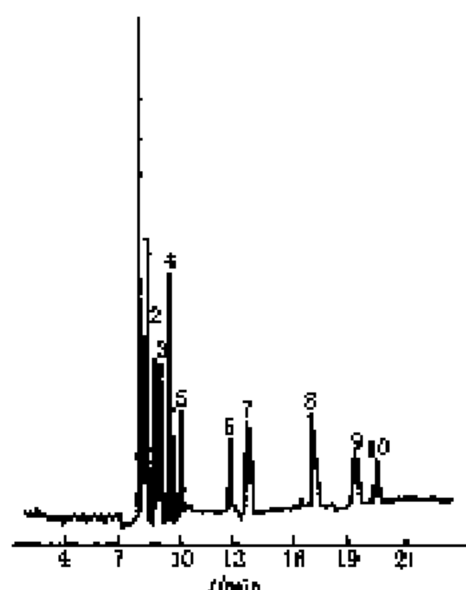


图 15-66 氨基酸的电泳分离谱图[45]

色谱峰：1—精氨酸；2—乙氨酸；3—丙氨酸；4—苯丙氨酸；5—丝氨酸；6—谷酰胺；7—天冬酰胺；8—半胱氨酸；9—谷氨酸；10—天冬氨酸；0—0.3%甲酸作电渗流标记

毛细管柱：有效长度 36 cm，总长度 49 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：0.05 mol·L⁻¹四硼酸钠溶液，pH9.8

电　压：13.5 kV

检测器：激光干涉折射指数检测

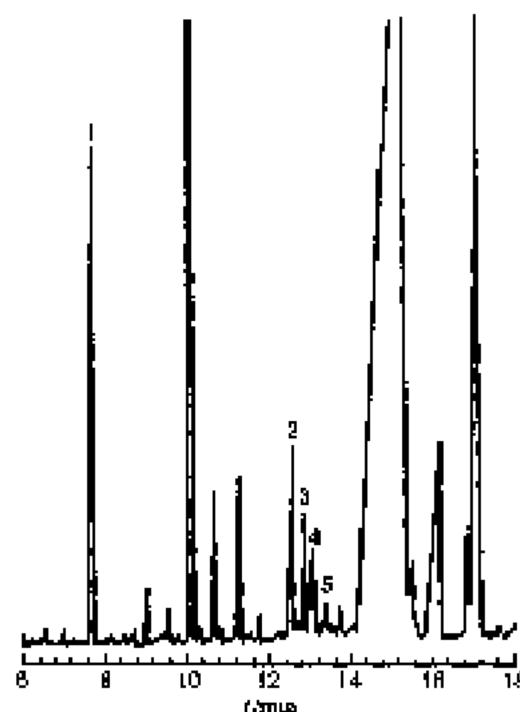


图 15-67 淋巴细胞中 UP-Sugars 脱蛋白液的电泳分离谱图[?]

色谱峰：1—[illegible]；2—尿苷二磷酸乙酰葡糖胺；3—尿苷二磷酸乙酰半乳糖胺；4—尿苷二磷酸葡萄糖；5—尿苷二磷酸半乳糖

毛细管柱：有效柱长 70 cm，总柱长 76.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹ Na_3PO_4，pH9

进　样：重力进样 150 mm，60 s

电　压：22 kV

检测器：紫外(262 nm)

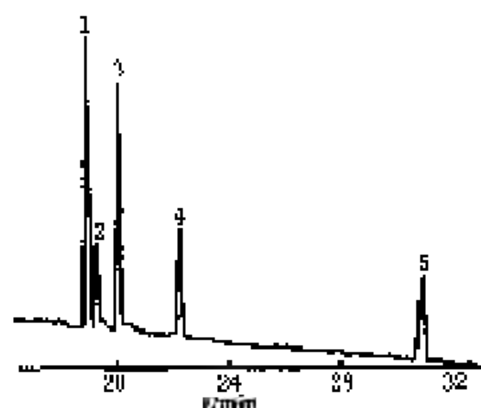


图 15-68　混合肽标准品的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—P 物质；2—神经降压肽；3—神经紧张肽；4—生长激素释放的抑制因子；5—P 物质片段

毛细管柱：长熔融硅管 60 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：0.1 mol·L⁻¹ pH2.7 磷酸缓冲液

进　样：重力进样，30 s

电　压：12 kV

检测器：紫外(214 nm)

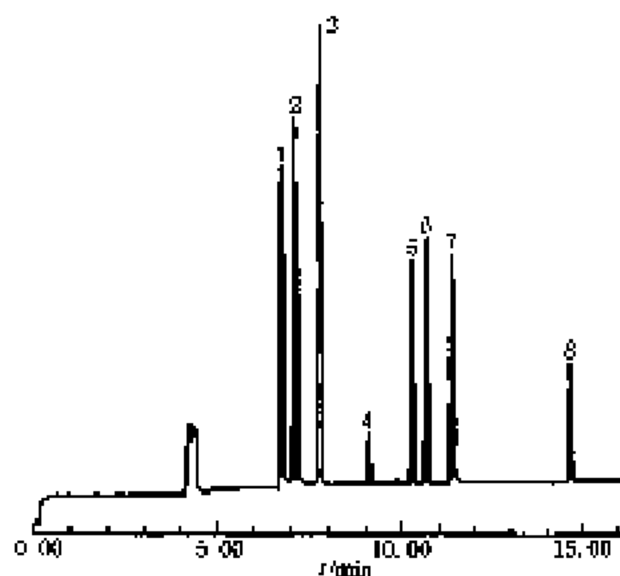


图 15-69　羟基芳香族的 CZE 谱图[illegible]

色谱峰：1—3，4，5-三甲氧基肉桂酸；2—3，4-二甲氧基肉桂酸；3—4-甲氧基肉桂酸；4—芥子酸；5—阿魏酸；6—o-香豆酸；7—P-香豆酸；8—咖啡酸

毛细管柱：柱长 50 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：0.1 mol·L⁻¹硼酸钠，pH8.5

进　样：重力，2 s

温　度：30℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(280 nm)

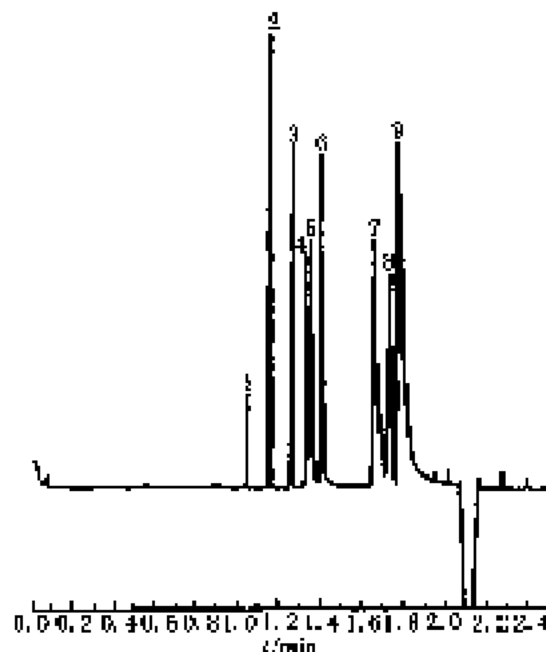


图 15-70　羟基苯甲酸和二羟基苯甲酸的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—1，2，4，5-苯四酸；2—2，6-二羟基苯甲酸；3—水杨酸；4—2，3-二羟基苯甲酸；5—2，5-二羟基苯甲酸；6—2，4-二羟基苯甲酸；7—3，5-二羟基苯甲酸；8—4-羟基苯甲酸；9—3，4-二羟基苯甲酸

毛细管柱：有效柱长 43 cm，总柱长 60 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：25 mmol·L⁻¹乙酸铵，0.01 mg·mol⁻¹ HDB，甲醇-乙腈（体积比=50∶50）

进　样：重力 5 cm，10 s

电　压：30 kV

检测器：紫外(214 nm)

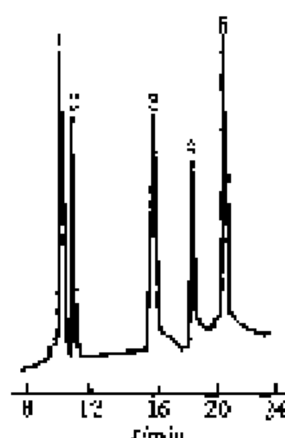


图 15-71　蛋白质的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—β-乳球蛋白 A；2—β-乳球蛋白 B；3—乳清蛋白；4—卵清蛋白；5—血红蛋白 A

毛细管柱：总长度 30 cm，内径 50 μm，内壁 PEG 400 交联修饰

缓冲溶液：0.3 mol·L⁻¹磷酸盐

进　样：6 kV，3 s

温　度：室温

电　压：8 kV

检测器：紫外(200 nm)

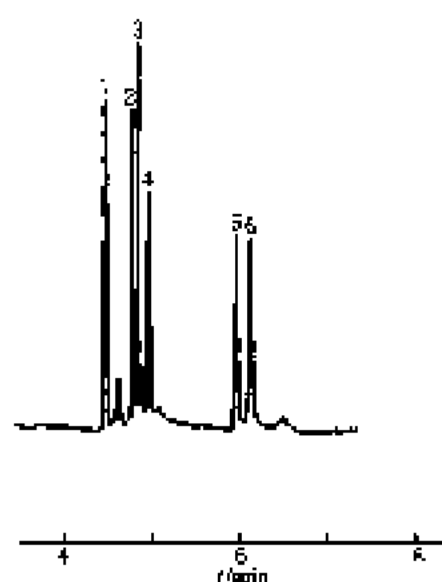


图 15-72　蛋白质的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—鲸骨骼肌红蛋白；2—马心肌红蛋白；3—碳酸酐酶 B；4—碳酸酐酶 A；5—β-乳球蛋白 B；6—β-球蛋白 A

毛细管柱：有效长度 55 cm，总长度 101 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹磷酸盐 pH8.25

温　度：室温

电　压：30 kV

检测器：紫外

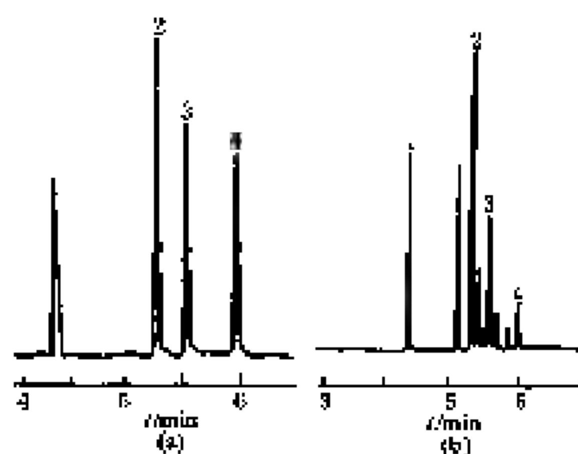


图 15-73　黄连的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—内标物；2—小檗碱；3—巴马汀；4—药根碱

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：60 mmol·L⁻¹ Na_2HPO_4（用 H_3PO_4 调至 pH7.0）＋甲醇（体积比＝65∶35）

进　样：低压 2 s

温　度：30 ℃

电　压：14 kV

检测器：紫外(254 nm)

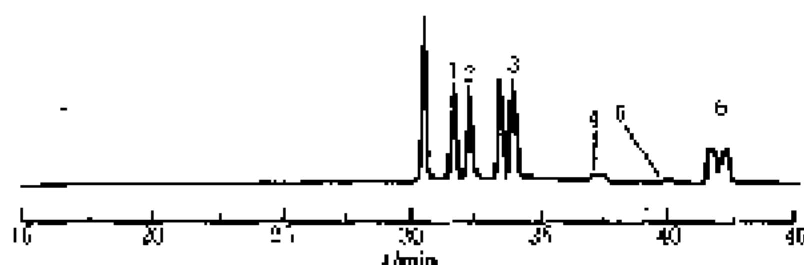


图 15-74　普萘洛尔及其代谢产物的电泳手性分离谱图[24]

色谱峰：1—DIP-HCl；2—Pr-HCl；3—4-OH-Pr-HCl；4—DEP-HCl；5—杂质；6—5'-OH-Pr-HCl

毛细管柱：有效柱长 52.8 cm，总柱长 69.3 cm，内径 50 μm

缓冲溶液　100 mmol·L⁻¹磷酸-三乙醇胺；17.4 mmol·L⁻¹ HP-β-CD；pH6.98

进　样：5kPa，1 s　　　　电　压：20 kV

温　度：30℃　　　　检测器：紫外

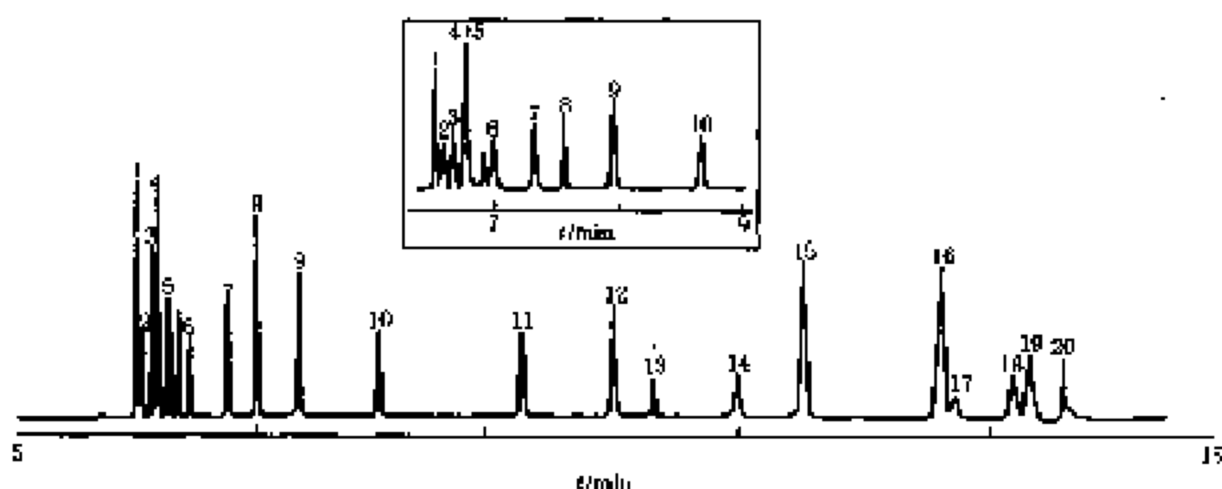


图 15-75　氯代苯甲酸样品的 CZE 谱图[25]

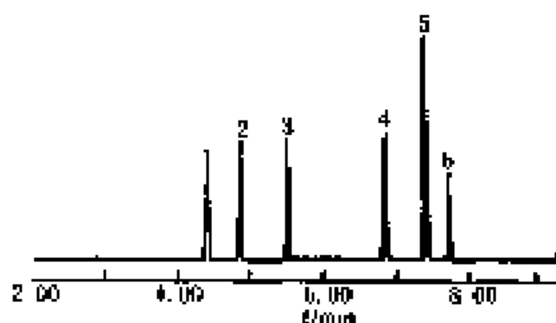
色谱峰：1—1，3，5-三氯代苯甲酸；2—1，2，4，5-四氯代苯甲酸；3—2，3，4，5-四氯代苯甲酸；4—1，2，3，4，5-五氯代苯甲酸；5—1，3，5-三氯代苯甲酸；6—1，2，3，4-四氯代苯甲酸；7—1，2，4-三氯代苯甲酸；8—1，5-二氯代苯甲酸；9—1，3，4-三氯代苯甲酸；10—1，2，3-三氯代苯甲酸；11—1，4-二氯代苯甲酸；12—2，3，4-三氯代苯甲酸；13—1，2-二氯代苯甲酸；14—1，3-二氯代苯甲酸；15—2，4-二氯代苯甲酸；16—2，3-二氯代苯甲酸；17—1-氯代苯甲酸；18—2-氯代苯甲酸；19—3-氯代苯甲酸；20—苯甲酸

毛细管柱：有效柱长 58 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20%甲醇，乙酸磷酸盐缓冲液 pH7.8，1.25 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液 w=0.001% HDB

进　样：5 kPa，6 s　　　　电　压：−30 kV

温　度：25℃　　　　检测器：紫外(215 nm)



色谱峰　1—C；2—T；3—U；4—HEFU；5—FU；6—5-FU

毛细管柱：有效长度 75 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：硼砂缓冲溶液，pH9.25

进　样：真空进样 1 s

温　度：35℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(270 nm)

图 15-76　嘧啶碱的电泳分离谱图[26]

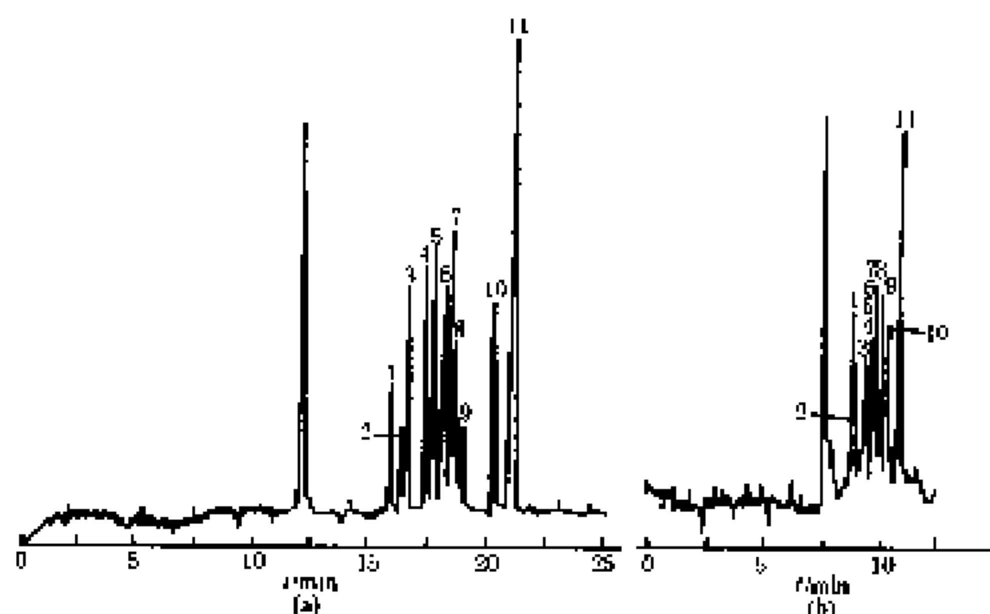


图 15-77 寡糖-对氨基苯甲酸乙酯衍生物的电泳分离谱图[?]

色谱峰 1—Glc α(1→4) [Glc α(1→4)]$_5$Glc；2—Glc α(1→4) [Glc α(1→4)]$_4$Glc；3—Glc α(1→6)Glc α(1→4)Glc α(1→4) Glc；4—Glc α NAc β (1→6) GlcNAc；5—Glc α (1→4) Glc；6—Glc β (1→4) Glc；7—Glc β NAc β (1→4) Glc (4←1) Fucα1；8—Glc α NAc β (1→6) Glc β (1→4) Glc；9—Gal β (1→3) GlcNAc β (1→3) Gal β (1→4) Glc；10—Gal α (1→4) Gal；11—Glc

毛细管柱：有效长度 47 cm，总长度 70 cm，内径 50 μm　　电　压：15 kV
缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹硼砂，pH9.45　　检测器：紫外(254 nm)
进　样：高度进样 20 cm 20 s

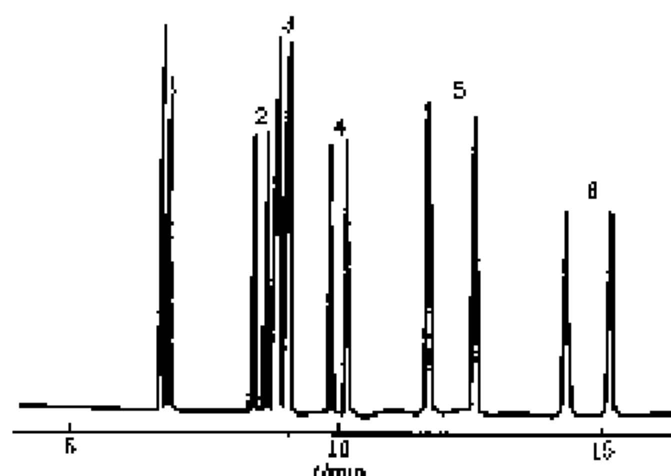
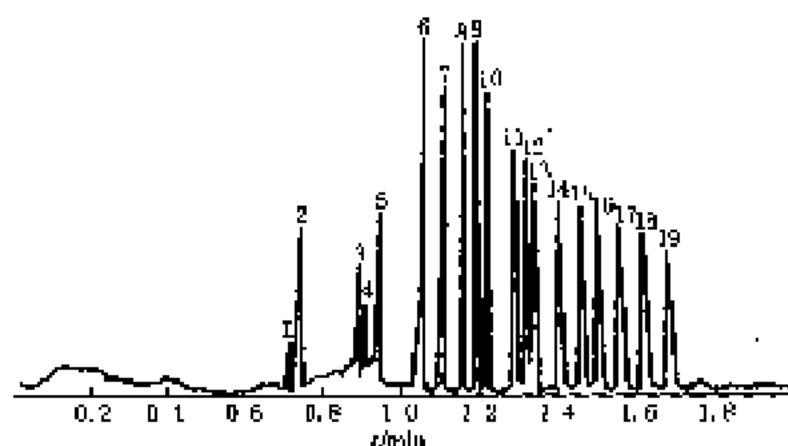


图 15-78 碱性药物的电泳手性分离谱图[79]

色谱峰：1—二甲福林；2—伪麻黄碱；3—异丙肾上腺素；4—克仑特罗；5—米安色林；6—美托咪啶
毛细管柱：有效长度 40 cm，内径 50 μm
缓冲溶液：0.3% HP-β-CD，50 mmol·L⁻¹磷酸盐 pH3.3
温　度：21℃
电　压：场强 400 V·cm⁻¹
检测器：紫外（200 nm～205 nm）



色谱峰：
1—铷；2—钾；3—钙；4—钠；5—镁；6—锂；7—镧；8—铈；9—镨；10—钕；11—钐；12—铕；13—钆；14—铽；15—镝；16—钬；17—铒；18—铥；19—镱

毛细管柱：总长度 36.5 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：4.0 mmol·L⁻¹ HIBA，10 mmol·L⁻¹ UV Cat-1 pH4.4

进　样：虹吸进样 20 s

电　压：30 kV

检测器：间接紫外(214 nm)

图 15-79　碱金属、碱土金属和稀土离子的电泳分离谱图[76]

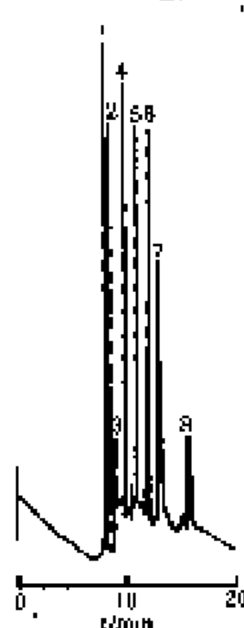


图 15-80　酸性和碱性蛋白质的电泳分离谱图[80]

色谱峰：1—细胞色素C；2—溶菌酶；3—乳酸脱氢酶；4—肌红蛋白；5—胰蛋白酶原；6—α-胰凝乳蛋白酶原；7—β-乳球蛋白 A；8—[illegible]

毛细管柱：有效长度 41 cm，总长度 44 cm，内径 50 μm

缓冲溶液　10 mmol·L⁻¹磷酸盐 pH 4.5

进　样：虹吸进样 8 cm，8 s

电　压：10 kV

检测器：紫外(200 nm)

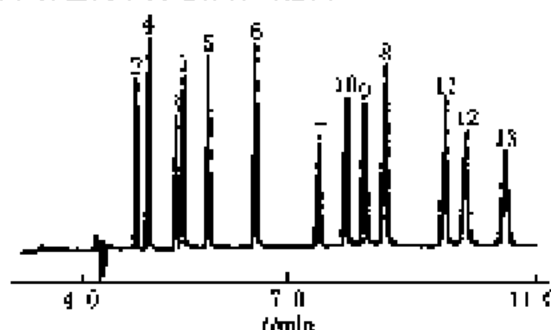


图 15-81　磺胺类化合物的电泳分离谱图[81]

色谱峰：1—磺胺二甲嘧啶；2—磺胺索嘧啶；3—磺胺甲氧嗪；4—磺胺噻唑；5—磺胺甲嘧啶；6—磺胺对甲氧嘧啶；7—磺胺嘧啶；8—磺胺地索辛；9—磺胺间甲氧嘧啶；10—磺胺喹噁啉；11—磺胺氯哒嗪；12—磺胺甲噁唑；13—磺胺苯吡唑

毛细管柱：有效柱长 36 cm，总柱长 43 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：60 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液

进　样：压力 2 s

温　度：25℃

电　压：15 kV

检测器：紫外(254 nm)

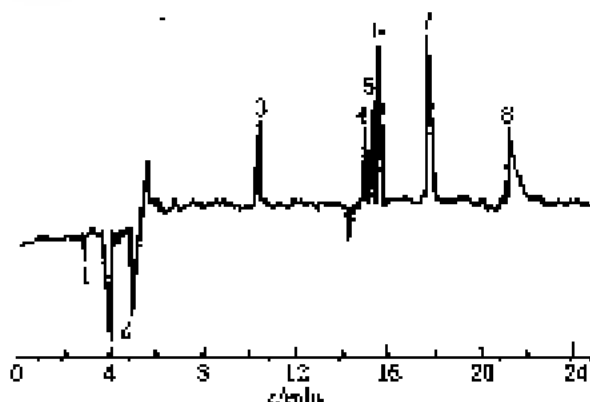


图 15-82　糖、无机阳离子和氨基酸的同时分离谱图[82]

色谱峰：1—K^+；2—Na^+；3—谷氨酰胺；4—蔗糖；5—葡萄糖；6—果糖；7—天冬氨酸；8—谷氨酸

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 73 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：80 mmol·L⁻¹ $NH_3·H_2O$，pH11.5

进　样：5 cm，50 s

电　压：25 kV

检测器：紫外(245 nm)

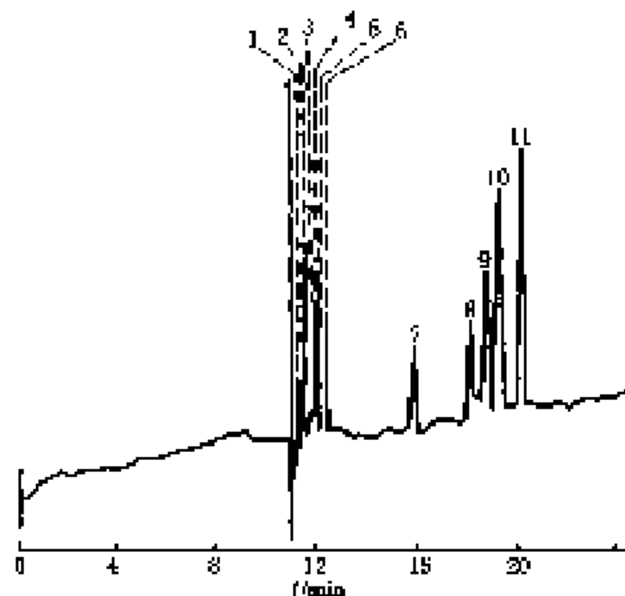


图 15-83 糖及糖酸的电泳分离谱图

色谱峰：1—棉子糖；2—2-脱氧-D-核糖；3—半乳糖；4—葡萄糖；5—鼠李糖；6—甘露糖；7—N-乙酰神经氨酸；8—葡萄糖；9—半乳糖醛酸；10—葡糖醛酸；11—甘露糖醛酸

毛细管柱：有效长度 100 cm，总长度 122 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：6 mmol·L^{-1}山梨酸盐，pH12.1

进　样：真空 2 s　　　　电　压：28 kV

温　度：30 ℃　　　　检测器：紫外（256 nm）

第二节　胶束电动毛细管色谱谱图

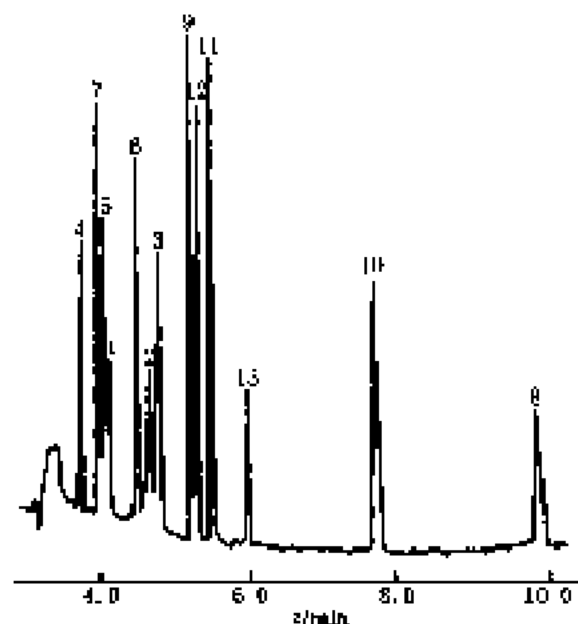


图 15-84　13 种磺胺药的 MEKC 谱图

色谱峰：1—磺胺嘧啶；2—磺胺二甲嘧啶；3—磺胺甲氧哒嗪；4—磺胺氯哒嗪；5—磺胺二甲基异噁唑；6—磺胺对甲氧嘧啶；7—磺胺吡啶；8—磺胺喹噁啉；9—磺胺单甲氧嘧啶；10—磺胺二甲氧嘧啶；11—磺胺氯吡嗪；12—巯代-N-甲咪唑；13—硫代异噁唑

毛细管柱：柱长 44 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1}-50 mmol·L^{-1}硼酸盐，含 40 mmol·L^{-1} SDS pH8.8

进　样：压力 1 s

温　度：25 ℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（214 nm）

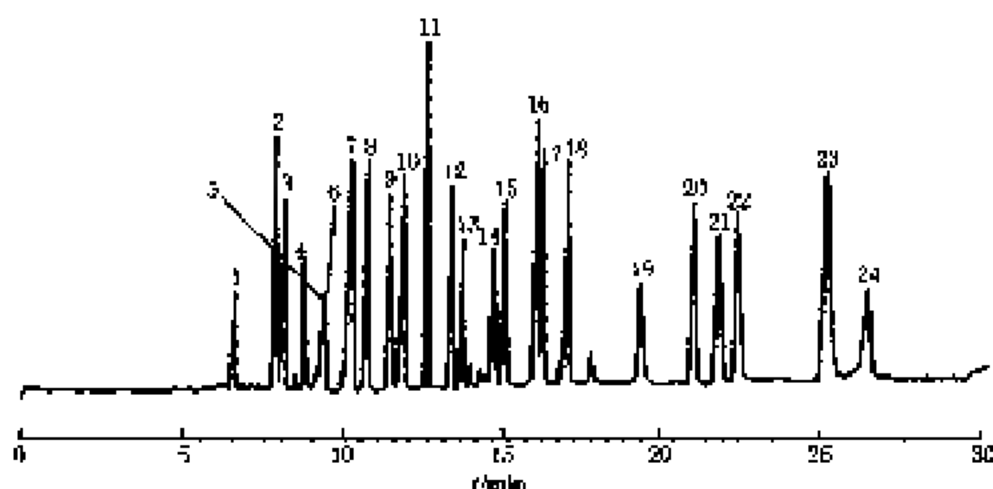


图 15-85　24 种毒药的 MEKC 谱图[45]

色谱峰：1—硝西泮；2—奥沙西泮；3—氯硝西泮；4—氟噻唑仑；5—依替唑仑；6—溴西泮；7—三唑仑；8—氟地西泮；9—阿普唑仑；10—替西泮；11—苯巴比妥；12—艾司唑仑；13—巴比妥；14—甲苯比妥；15—咪哒唑仑；16—戊巴比妥；17—司可巴比妥；18—异戊巴比妥；19—美沙巴妥；20—氟硝西泮；21—氟西泮；22—硝甲西泮；23—氯西泮；24—哈西泮

毛细管柱：PAA 涂层柱

缓冲溶液：100 mmol·L⁻¹硼酸盐（pH8.3），5 mol·L⁻¹尿素，10 mmol·L⁻¹ SDS，5%MeCN

进　样：5 kV，5 s

电　压：300 V·cm⁻¹场强

检测器：紫外(254 nm)

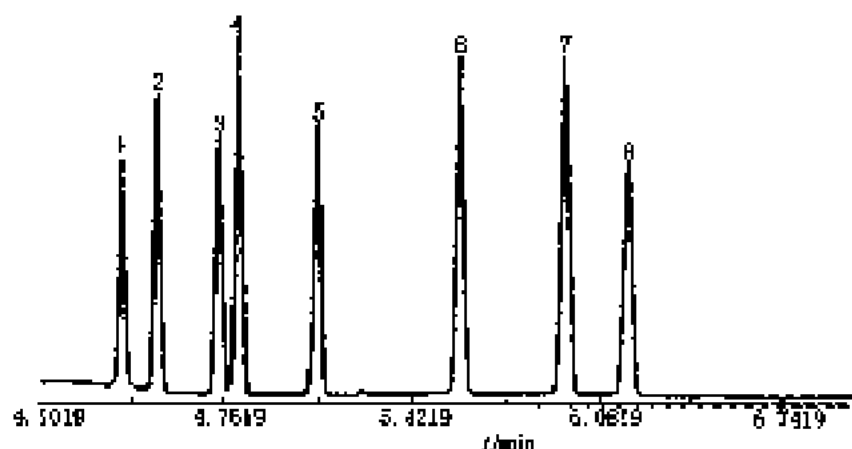


图 15-86　8 种激素的 MEKC 谱图[46]

色谱峰：1—睾酮丙酸酯；2—黄体酮；3—17-羟基黄体酮；4—睾酮；5—11-去氧皮质甾酮；6—21-去氧皮质甾醇；7—皮质甾酮；8—可的松

毛细管柱：中性，CAP 毛细管，有效柱长 37 cm，内径 50 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：100 mmol·L⁻¹ SDS，φ=20%乙腈，20 mmol·L⁻¹ ME，pH8

温　度：16℃

电　压：15 kV

检测器：紫外(254 nm)

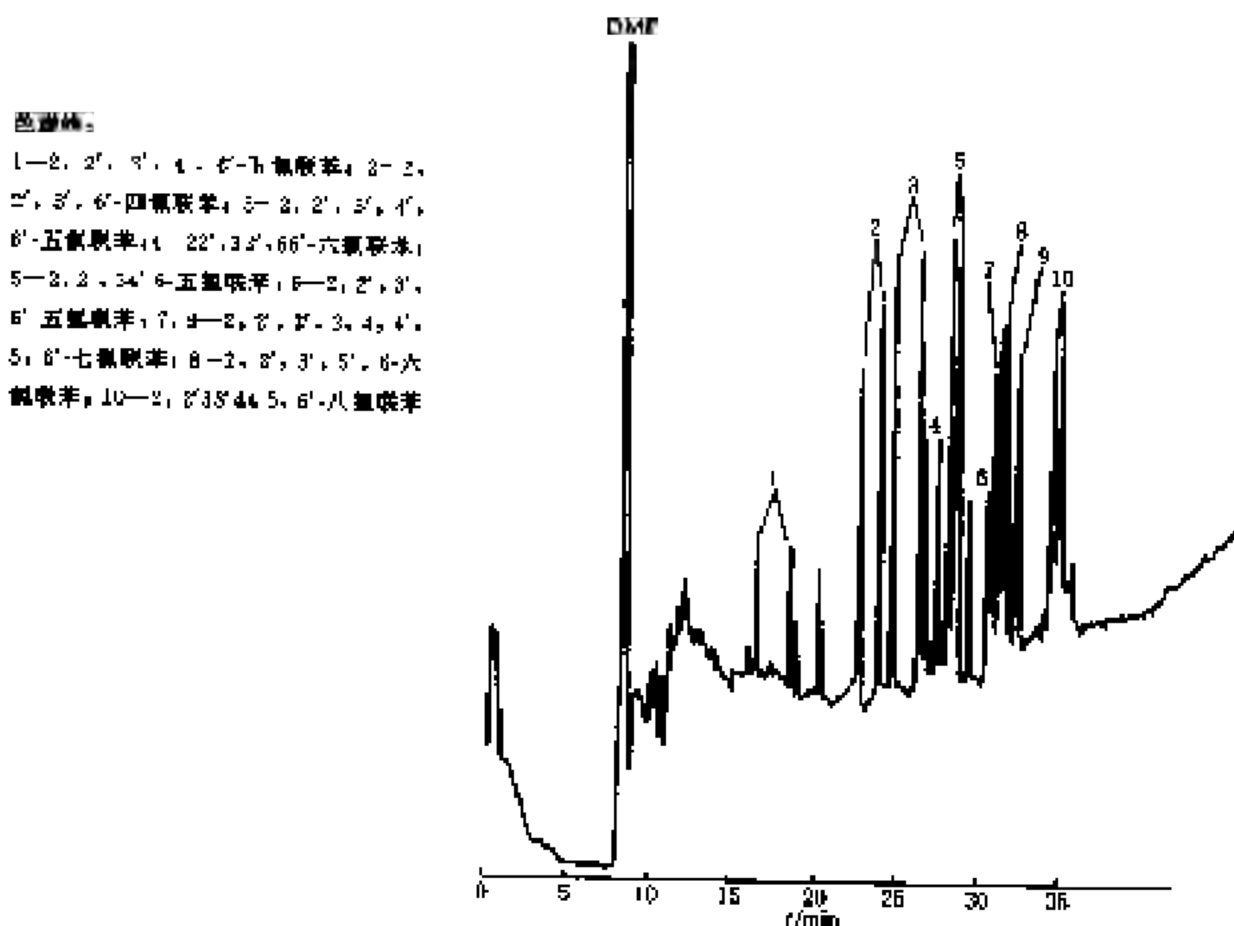


图 15-87　9 种多氯联苯对映体的手性拆分谱图[illegible]

毛细管柱　有效柱长 65 cm，内径 50 μm

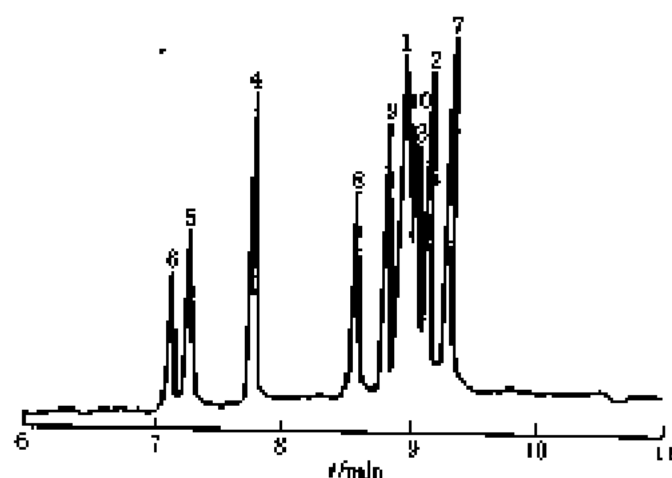
缓冲溶液：0.10 mol·L^{-1} CHES（pH10.0），2 mol·L^{-1} 尿素，0.11 mol·L^{-1} SDS，0.05 mol·L^{-1} γ-CD

进　样：2000 Pa 0.05 min

温　度：45℃

电　压：15 kV

检测器：紫外(235 nm)



色谱峰：1—2-硝基甲苯；2—3-硝基甲苯；3—4-硝基甲苯；4—1，2-二硝基苯；5—1，3-二硝基苯；6—1，4-二硝基苯；7—2，3-二硝基甲苯；8—2，4-二硝基甲苯；9—2，6-二硝基甲苯；10—3，4-二硝基甲苯

毛细管柱：有效柱长 40 cm，47 cm，内径 50 μm，外径 360 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1} SDS＋10 mmol·L^{-1} HP-β-CD 溶于 20 mmol·L^{-1} 硼酸盐缓冲液 pH9

进　样：压力进样 3.44 kPa，3 s

电　压：10 kV

检测器：紫外(214 nm)

图 15-88　10 种爆炸物的 MECC 分离谱图[illegible]



图 15-89 三硝基甲苯异构体的 MECC 分离谱图[20]

色谱峰：1—2，4，6-三硝基甲苯；2—2，3，6-三硝基甲苯；3—2，3，4-三硝基甲苯；4—2，3，5-三硝基甲苯；5—2，4，5-三硝基甲苯；6—3，4，5-三硝基甲苯

毛细管柱：有效长度 47 cm，总长度 60 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹ $Na_2B_4O_7$（pH9.05），50 mmol·L⁻¹ SDS，10 mmol·L⁻¹ 聚乙二醇十二烷基醚，10 mmol·L⁻¹ NaH_2PO_4

进　样：高度差进样

检测器：紫外（254 nm）

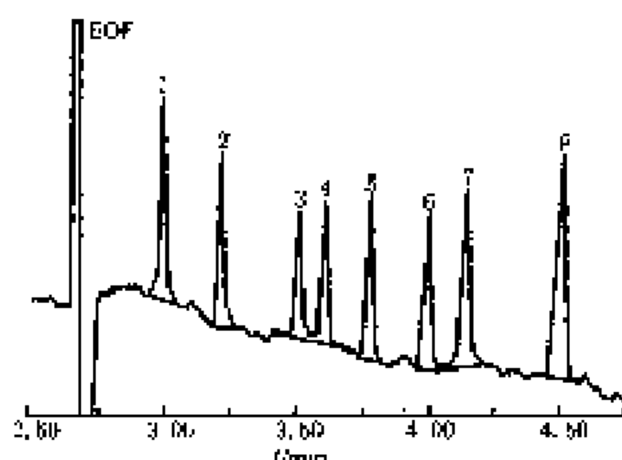


图 15-91 饱和及不饱和脂肪酸的 MECC 分离谱图[21]

色谱峰：1—$C_{22:1}$；2—$C_{18:3}$；3—$C_{16:1}$；4—$C_{20:1}$；5—$C_{18:2}$；6—$C_{16:0}$；7—$C_{18:1}$；8—$C_{18:0}$（$C_{m:n}$，m—碳数，n—双键数）

毛细管柱：有效柱长 27.5 cm，总柱长 35 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹ Tris-5 mmol·L⁻¹ p-甲苯磺酸盐（pH8.1）-10 mmol·L⁻¹ Brij 35 于甲醇＋水（体积比＝50：50）

进　样：重力 5 s

温　度：25℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（254 nm）

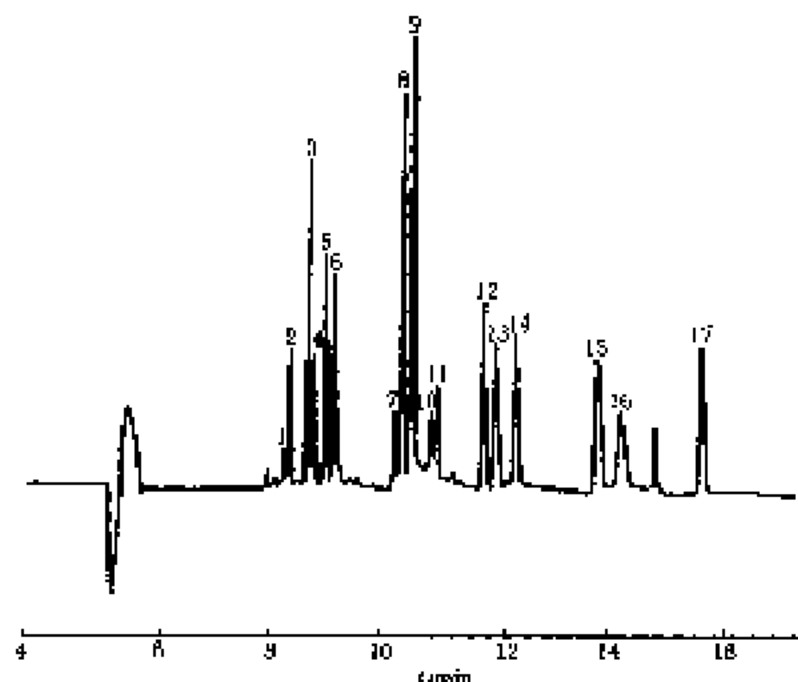


图 15-90 皮质甾酮类化合物的 MECC 分离谱图[22]

色谱峰：1—脱氧皮质甾酮；2—17-甲基睾酮；3—4-（二丙基氨基磺酰基）苯甲酸；4—可的松；5—d-醛固酮；6—4-雄烯-11β-ol-3，17-二酮；7—皮质醇；8—9-氟皮质醇乙酸盐；9—地塞米松；10—21-脱氧皮质醇；11—苯甲酸；12—4-雄烯-3，17-二酮；13—皮质酮；14—11-脱氧皮质醇；15—17α-羟基黄体酮；16—11-脱氧皮质甾酮；17—黄体酮

毛细管柱：有效柱长 60 cm，总柱长 68.5 cm

缓冲溶液：40 mmol·L⁻¹ AMSPD，18 mmol·L⁻¹ SDS，55 mmol·L⁻¹ SC，pH9.0

进　样：5000 Pa，3 s

温　度：25℃

电　压：25 kV

检测器：紫外（254 nm）

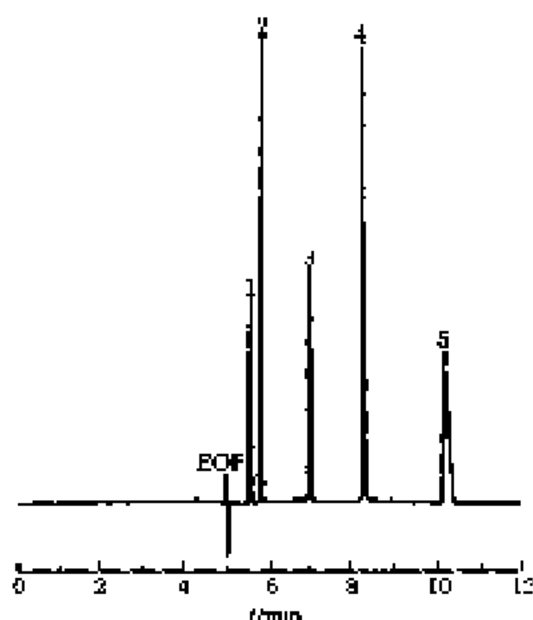


图 15-92　咖啡因等药物的 MECC 分离谱图[34]

色谱峰：1—对乙酰氨基酚；2—咖啡因；3—愈创甘油醚；4—乙水杨胺；5—异丙基安替比林

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹ Tris-磷酸盐(pH6.5)，25 mmol·L⁻¹ SDS

进　样：5 kPa·2 s

温　度：25℃

电　压：20 kV

检测器：紫外(214 nm)

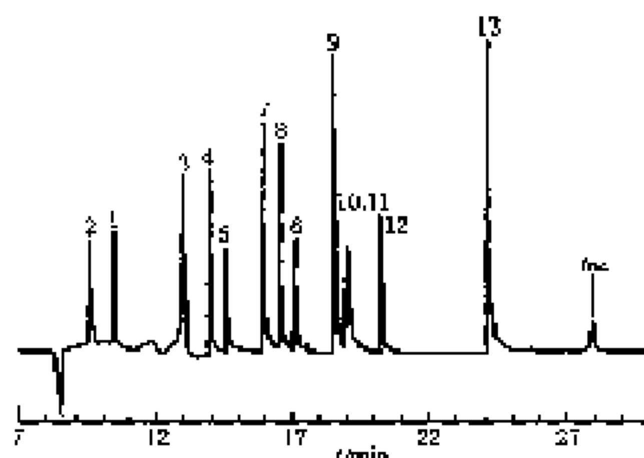


图 15-93　13 种苯胺类化合物的 MEKC 分离谱图[32]

色谱峰：1—苯胺；2—磺胺；3—4-甲基苯胺；4—3-硝基苯胺；5—4-硝基苯胺；6—4-氯苯胺；7—2-硝基苯胺；8—2-溴苯胺；9—3-溴苯胺；10—4-三氟甲基苯胺；11—4-碘化钾；12—4-异丙基苯胺；13—3,4-二氯苯胺

毛细管柱：柱长 67 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：55 mmol·L⁻¹硼酸盐 NaOH，pH10

进　样：高压 8 s

温　度：25℃

电　压：15 kV

检测器：紫外(214 nm)

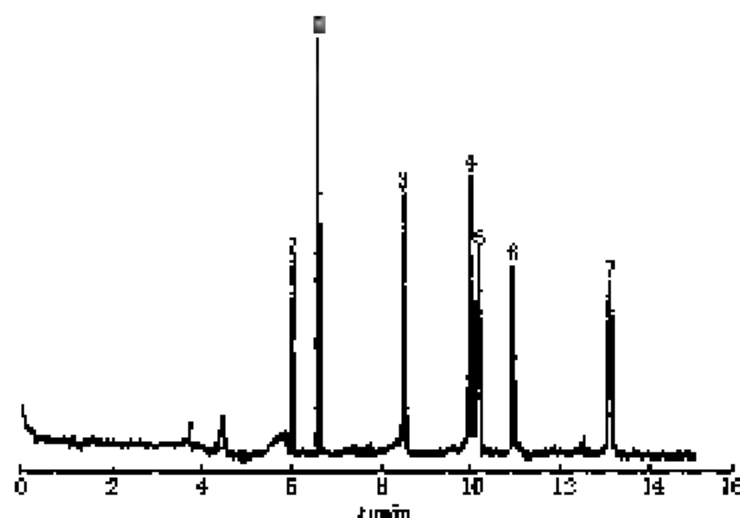


图 15-94　OPA/TATG 衍生化氨基酸的 MECC 谱图[36]

色谱峰：1—L-苏氨酸；2—L-谷氨酸；3—L-苯丙氨酸；4—D-蛋氨酸；5—亮氨酸；6—异亮氨酸；7—L-赖氨酸

毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 56.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：45 mmol·L⁻¹ SDS，40 mmol·L⁻¹硼酸盐 pH9.55，4%乙腈

电　压：15 kV

检测器：激光诱导荧光

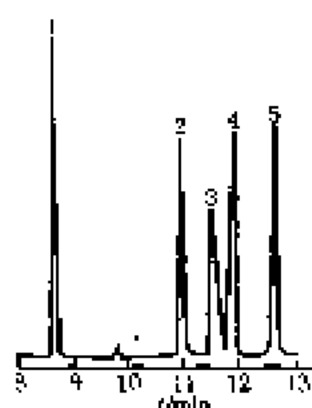


图 15-95　5 种二氢吡啶类钙拮抗剂的分离谱图[16]

色谱峰：1—硝苯地平；2—尼群地平；3—尼莫地平；4—尼索地平；5—尼卡地平

色谱柱：75 cm×75 μm，有效长度 68 cm

缓冲溶液：40 mmol·L⁻¹硼砂—40 mmol·L⁻¹ SDS

柱　温：40℃

电　压：24 kV

检测器：UV(200 nm)

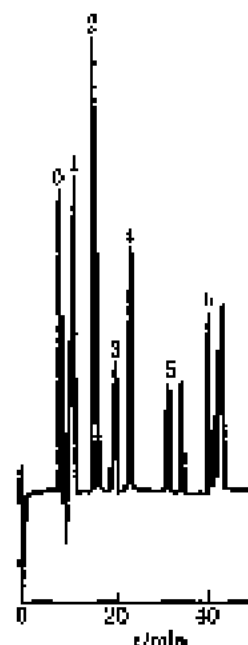


图 15-96　SD-SDS 分离 PTH-DL-氨基酸谱图[16]

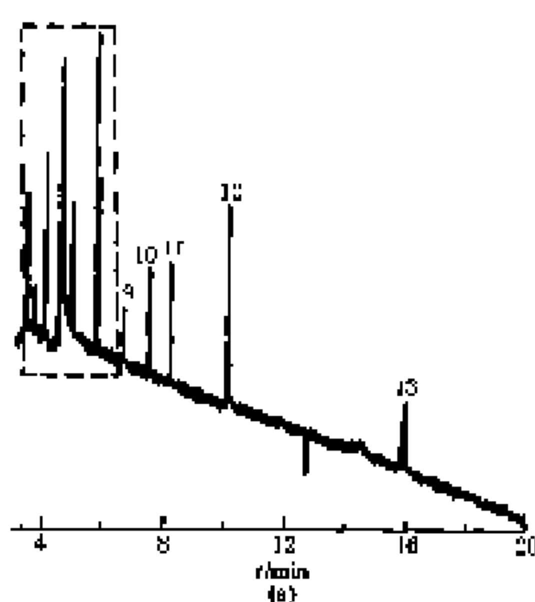
色谱峰：0—乙腈；1—丝氨酸；2—丙氨酸；3—Nva；4—缬氨酸；5—色氨酸；6—Nle

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 65 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹ SD Val，30 mmol·L⁻¹ SDS，0.5 mol·L⁻¹ φ—10%尿素甲醇

电　压：20 kV

检测器：紫外(250 nm)



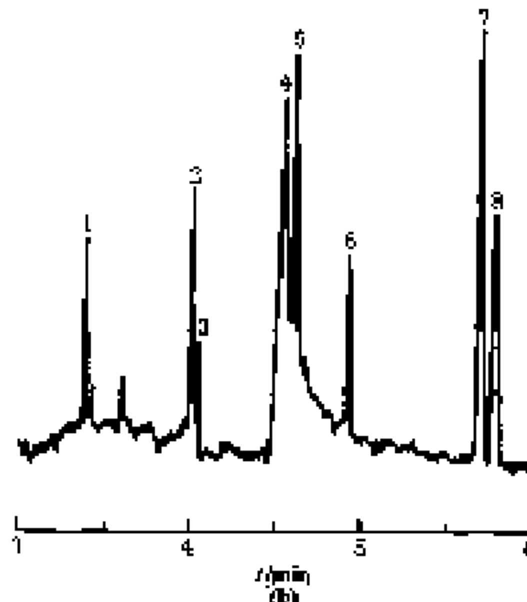


图 15-97　β-酪蛋白经胰蛋白酶解产物的 MEKC 谱图[91]

图 (b) 为图 (a) 中虚线框放大图。

色谱峰：1—T12b；2—T1；3—T10；4—T14；5—T11；6—T10a；7—T2；8—T9；9—T4；10—T15；11—T3；12—T5；13—T12a

毛细管柱：有效柱长 23 cm，总柱长 30 cm，内径 75 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：30 mmol·L⁻¹ Asp(pH3.0)，0.5% HEC，10% TFE，50 mmol·L⁻¹ NDSB-195

进　样：压力，30 s

温　度：25℃

电　压：场强 600 V·cm⁻¹

检测器：紫外(214 nm)

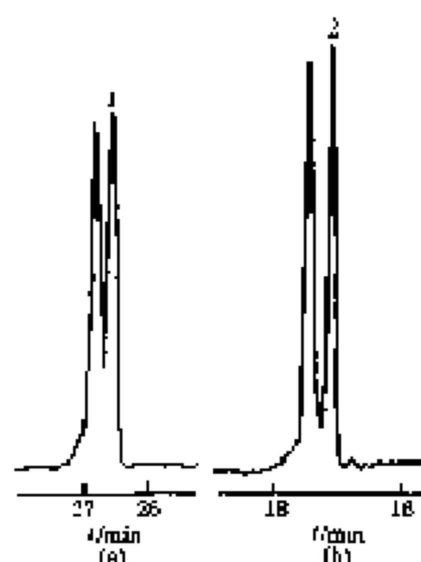


图 15-98 盐酸异博定和盐酸美西律对映体 MEKC 谱图[illegible]

色谱峰：1—盐酸异博定；2—盐酸美西律

毛细管柱：有效柱长 41 cm，总柱长 62 cm，内径 50 μm，外径 375 μm

缓冲溶液：(a) 100 mmol·L^{-1} Tris-H_3PO_4 溶液 + 30 mmol·L^{-1} HP-β-CD + 0.05%羟丙基纤维素；

(b) 100 mmol·L^{-1} Tris-H_3PO_4 溶液 + 9mmol·L^{-1} HP-β-CD + 0.05%羟丙基纤维素

进　样：电动进样

温　度：(14~17)℃

检测器：紫外(210 nm)

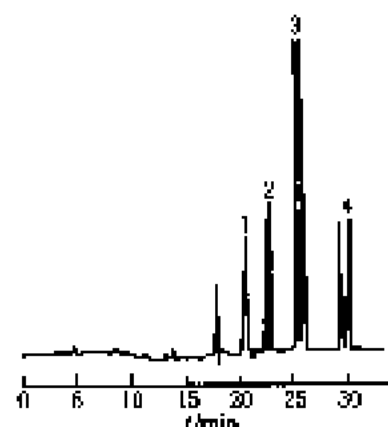


图 15-99 巴比妥的 MEKC 谱图[illegible]

色谱峰：1—戊巴比妥；2—皮巴比妥；3—甲苯巴比妥；4—环己巴比妥

毛细管柱：有效柱长 41 cm，总柱长 47 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：100 mmol·L^{-1}硼酸盐缓冲液 pH8.4 胆酸，40 mmol·L^{-1} α-CD

进　样：电动进样 1 s

电　压：15 kV

检测器：紫外(214 nm)

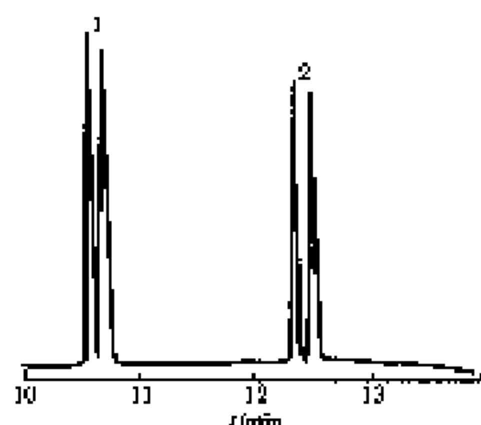


图 15-100 手性碱性药物的电泳分离谱图[illegible]

色谱峰：1—甲基羟基苯丙胺；2—甲基苯丙胺

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：30 mmol·L^{-1}磷酸氢二钠 110 mmol·L^{-1}硼酸，45 mmol·L^{-1} β-十二烷基-β-葡米-4，6-磷酸钠盐 pH8.6

进　样：压力进样　　电　压：20 kV

温　度：25℃　　检测器：紫外(214 nm)

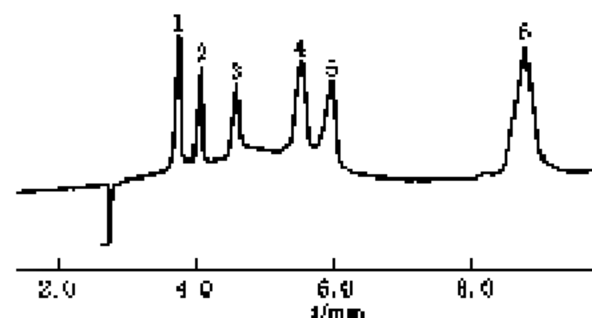


图 15-101 四环素类药物的 MEKC 谱图[illegible]

色谱峰：1—氧四环素；2—四环素；3—地美环素；4—氯四环素；5—多西环素；6—米诺环素

毛细管柱：有效柱长 36 cm，总柱长 43 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：15 mmol·L^{-1}磷酸钠缓冲液含 20 mmol·L^{-1} SDS Brij 35 (1.35 mg·ml^{-1}) pH6.5

进　样：重力，1 s　　电　压：15 kV

温　度：25℃　　检测器：紫外 (265nm)

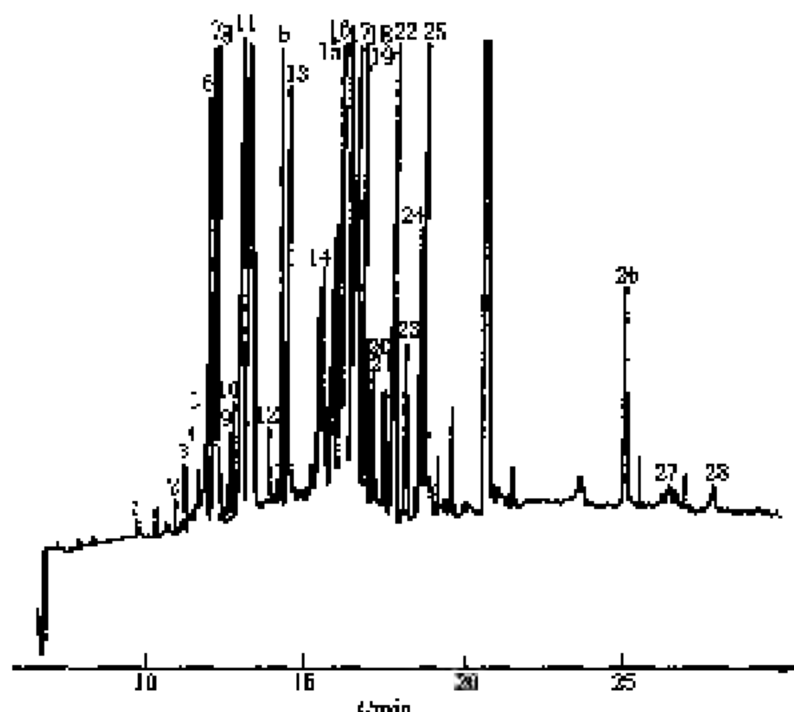


图 15-102　葡萄酒中氨基酸（FITC 标记）的 MEKC 谱图[102]

色谱峰：1—精胺；2—精氨酸；3—赖氨酸；4—组胺；5—鸟氨酸；6—酪氨酸；7—乙醇胺；8—乙胺；9—腐胺；10—β-苯基乙胺；11—氨；12—亚精胺；13—精脒；14—苏氨酸；15—亮氨酸-异亮氨酸；16—缬氨酸；17—苯丙氨酸-蛋氨酸；18—色氨酸；19—天冬酰胺；20—胱氨酸；21—丝氨酸；22—丙氨酸；23—脯氨酸；24—牛磺酸；25—甘氨酸；26—谷氨酸；27—天冬氨酸；28—磺基丙氨酸；b—FITC 色谱峰

毛细管柱：柱长 75 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹ SDS，100 mmol·L⁻¹ 硼酸 pH9.3

进　样：2 s

电　压：30 kV

检测器：激光诱导荧光

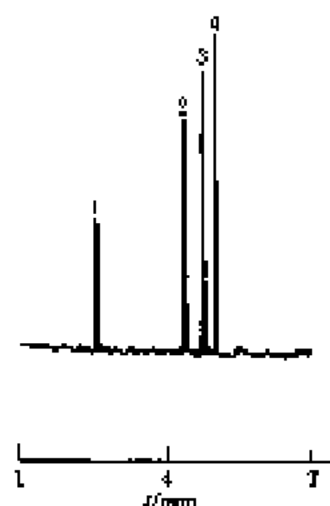


图 15-103　东莨菪碱药物的 MEKC 谱图[103]

色谱峰：1—N-氧基东莨菪碱；2—东莨菪碱溴化物；3—N-甲基东莨菪碱溴化物；4—N-丁基东莨菪碱溴化物

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：30 mmol·L⁻¹ 磷酸盐（pH7.0），30 mmol·L⁻¹ SDS

进　样：压力 2 s

温　度：25℃

电　压：24 kV

检测器：紫外（200 nm）

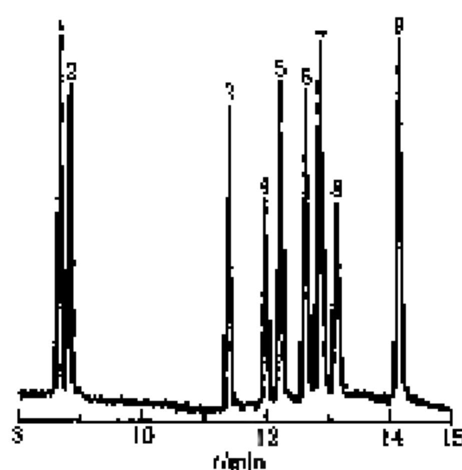


图 15-104　生物碱混合物的电泳分离谱图[104]

色谱峰：1—麦角诺文宁；2—麦角诺文；3—麦角考宁宁；4—麦角隐亭宁；5—麦角考宁；6—麦角隐亭；7—麦角日亭宁；8—麦角日亭；9—麦角胺

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 37 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹ β-CD，8 mmol·L⁻¹ γ-CD，2 mol·L⁻¹ 尿素，w=0.3% PVA

电　压：25 kV

检测器：紫外（214 nm）

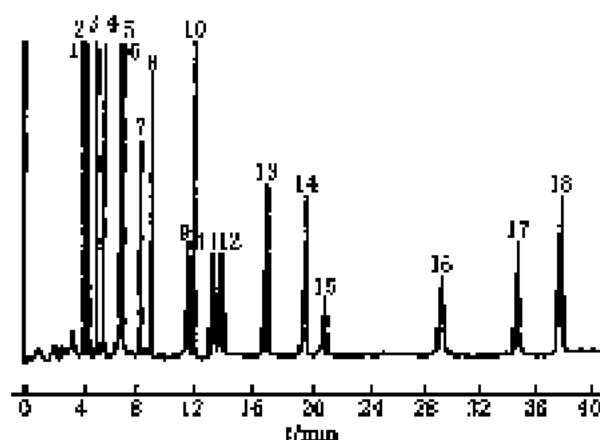


图 15-105　兴奋剂的 MECC 谱图[104]

色谱峰：1—二甲-4-羟色胺磷酸；2—吗啡；3—苯巴比妥；4—二甲-4-羟色胺；5—可待因；6—甲基喹唑酮；7—麦角酸二乙胺；8—海洛因；9—苯异丙胺；10—利眠宁；11—可卡因；12—脱氧麻黄碱；13—去甲氯羟安定；14—脱氧麻黄；15—芬太尼；16—PCP；17—大麻二酚；18—Δ^9 THC

毛细管柱：有效长度 29 cm，总长度 47 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：0.085 mmol·L^{-1}SDS，0.0085 mmol·L^{-1} KH_2PO_4，0.0085 mol·L^{-1} $Na_2B_4O_7$，φ=15%（体积分数）乙腈，pH8.5

进　样：真空进样

温　度：40℃

电　压：25 kV

检测器：紫外（210 nm）

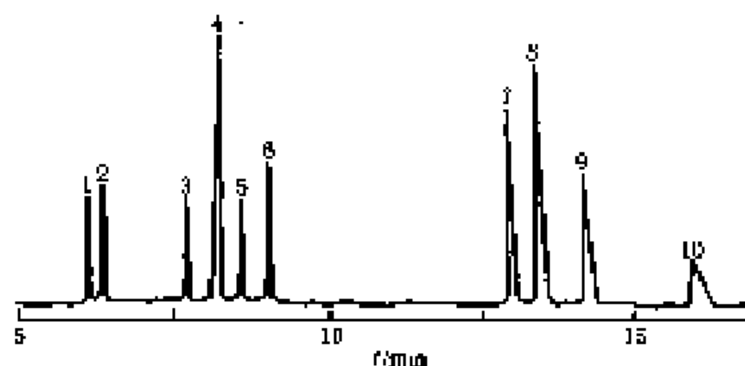


图 15-106　合成颜料的 MECC 谱图[105]

色谱峰：1—绿色S；2—亮蓝；3—赤藓红B；4—红色4；5—靛蓝胭脂红；6—日落黄；7—偶氮玉红；8—苋菜红；9—丽春红；10—酒石黄

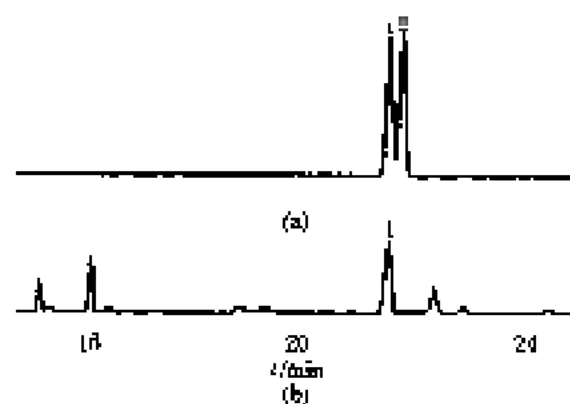
毛细管柱：有效长度 40 cm，总长度 65 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：85% 50 mmol·L^{-1}脱氧胆酸钠，5 mmol·L^{-1} KH_2PO_4，5 mmol·L^{-1}硼砂，pH8.6 15%乙腈

温　度：25℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（214 nm）



色谱峰：1—D-泛酸；2—L-泛酸

毛细管柱：柱长 56 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹磷酸盐（pH7.0），50 mmol·L⁻¹ 2HP-β-CD

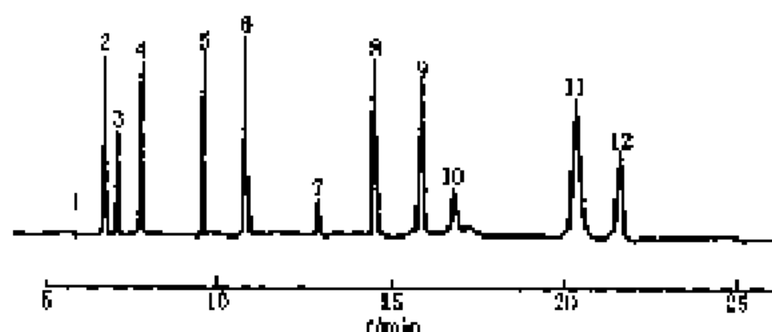
进　样：50 kPa×4 s

温　度：20℃

电　压：20 kV

检测器：紫外（200 nm）

图 15-107　泛酸的手性分离电泳谱图[127]



色谱峰：1—EOF 标记；2—酪氨酸；3—苯丙氨酸；4—色氨酸；5—对甲酚；6—吲哚；7—精氨酸；8—3-甲基吲哚；9—β-酪蛋白；10—α-酪蛋白；11—多肽 RGPFPI；12—苏丹Ⅲ（胶束标记）

图 15-108　乳酪杂肽混合物的 MEKC 谱图[128]

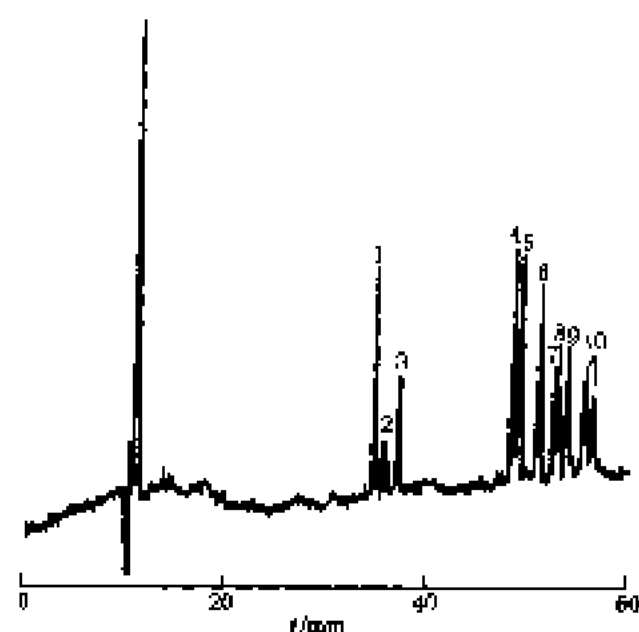
毛细管柱：总长度 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：100 mmol·L⁻¹硼酸钠，40 mmol·L⁻¹ SDS，pH8.5

进　样：压力进样

电　压：20 kV

检测器：紫外（200 nm）



色谱峰：1—D-半乳糖单二苯腙；2—5-脱氧-D-果糖双二苯腙；3—D-葡糖醛酮单二苯腙；4—D-半乳糖单二苯腙乙酰衍生；5—D-木酮糖单二苯腙乙酰衍生；6—6-脱氧葡糖醛酮单二苯腙乙酰衍生；7—2-呋喃基乙二醛；8—D-葡糖醛酮双二苯腙；9—5-羟基-2,3-二氢吡喃；10—2-呋喃基乙二醇

毛细管柱：有效柱长 65 cm，总柱长 70 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：5 mmol·L⁻¹硼酸盐缓冲液 pH8.0（w=89.27%），SDS（w=3.31%），n-丁醇（w=6.61%），n-辛醇（w=0.81%）

进　样：10 kV，5 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（280 nm）

图 15-109　苯腙糖的 MEKC 谱图[129]

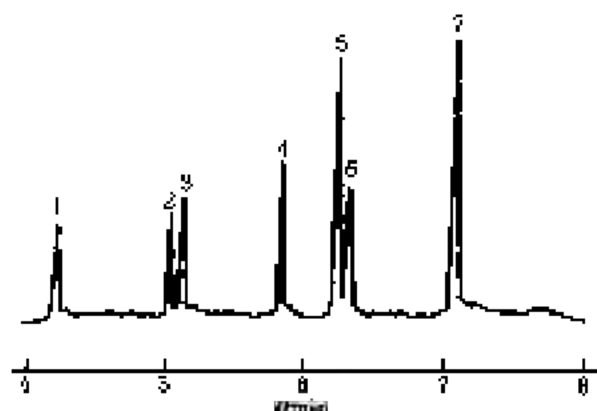


图 15-110　苯胺类化合物标准品 MECC 谱图[illegible]

色谱峰：1—苯胺；2—对硝基苯胺；3—间硝基苯胺；4—邻硝基苯胺；5—N，N-二甲基苯胺；6—2，4-二硝基苯胺；7—联苯胺

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：40 mmol·L⁻¹SDS，40 mmol·L⁻¹硼酸盐，pH9.0

进　样：压力进样，5 s，3.45 kPa

温　度：30℃

电　压：20 kV

检测器：紫外（210 nm）

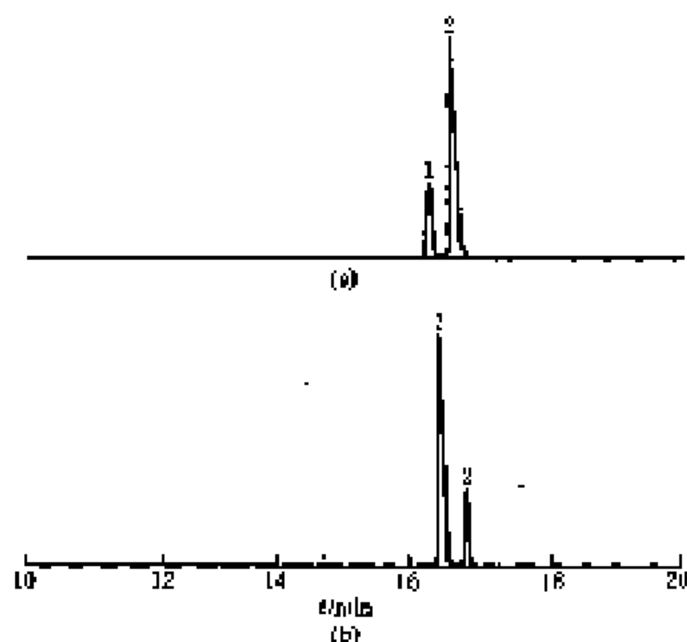


图 15-111　苯偶姻手性异构体分离谱图[illegible]

色谱峰：1—R-苯偶姻；2—S-苯偶姻

毛细管柱：有效长度 56 cm，总长度 60 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：25 mmol·L⁻¹磷酸氢二钠 25 mmol·L⁻¹硼砂，25 mmol·L⁻¹（R）-N-十二烷氧羰基缬氨酸 pH8.8

进　样：虹吸进样

温　度：室温

电　压：12 kV

检测器：紫外（214 nm）

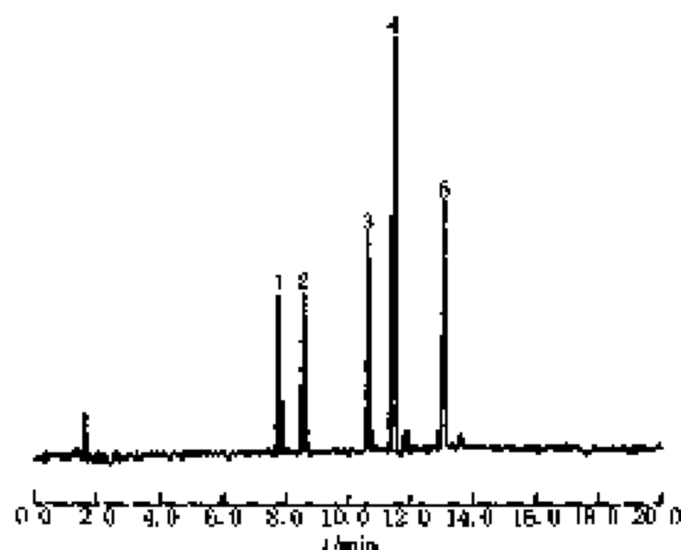


图 15-112　苯基脲素类农药的电泳分离谱图[312]

色谱峰：1—灭草隆；2—绿谷隆；3—异丙隆；4—敌草隆；5—利谷隆

毛细管柱：有效柱长 70 cm，总柱长 85 cm，内径 50 μm，外径 360 μm

缓冲溶液：4 mmol·L^{-1}四硼酸钠-12 mmol·L^{-1}磷酸二氢钾（pH7.0），50 mmol·L^{-1}SDS

进　样：重力

温　度：25℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（244 nm）

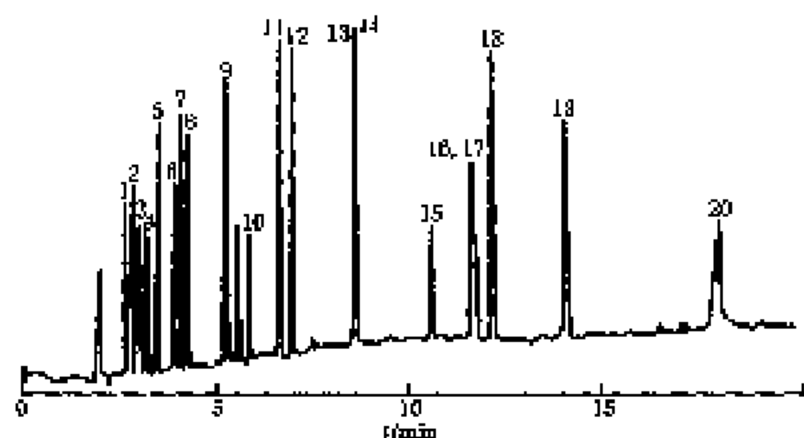


图 15-113　标准 PTH 氨基酸的 MECC 谱图[314]

色谱峰：1—Thr；2—Asn；3—Ser；4—Glu；5—Asp；6—Gly；7—Gln；8—Ala；9—Tyr；10—DMPTU；11—Pro；12—Val；13—Met；14—His；15—Ile；16—Leu；17—Trp；18—Phe；19—Lys；20—Arg

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1}磷酸-硼酸盐缓冲液，50 mmol·L^{-1}SDS，pH7.0

进　样：压力进样

温　度：50℃

电　压：14 kV

检测器：紫外（269 nm）

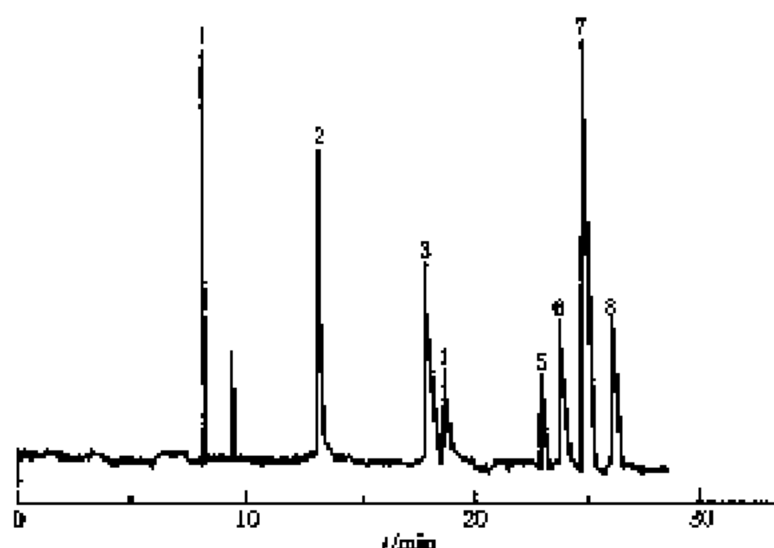


图 15-114 毒品的 MECC 谱图[114]

色谱峰：1—咖啡因；2—吗啡；3—6-单乙酰吗啡；4—可待因；5—海洛因；6—乙酰可待因；7—罂粟碱；8—可卡因

毛细管柱：有效长度 60 cm，总长度 84 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1}硼砂，25 mmol·L^{-1}SDS，φ=10%甲醇，pH9.22

进　样：压差法进样

电　压：25 kV

检测器：紫外（206 nm）

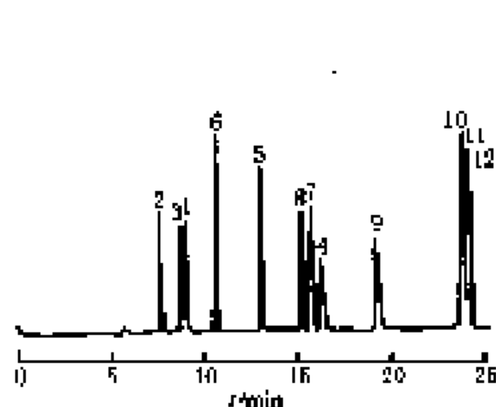


图 15-115 药物的 MEKC 谱图[115]

色谱峰：1—咖啡因；2—乙酰氨基非那林；3—安乃近；4—三米吐蕃酸；5—愈创木酚甘油醚；6—甲氧萘丙酸；7—乙酰酰胺；8—非那西汀；9—异丙基氨替比林；10—那可汀；11—氯胆米；12—双氯甲酸酸

缓冲溶液：0.02 mol·L^{-1}磷酸盐-硼酸盐 pH9.0，0.1 mol·L^{-1}SDS

电　压：20 kV

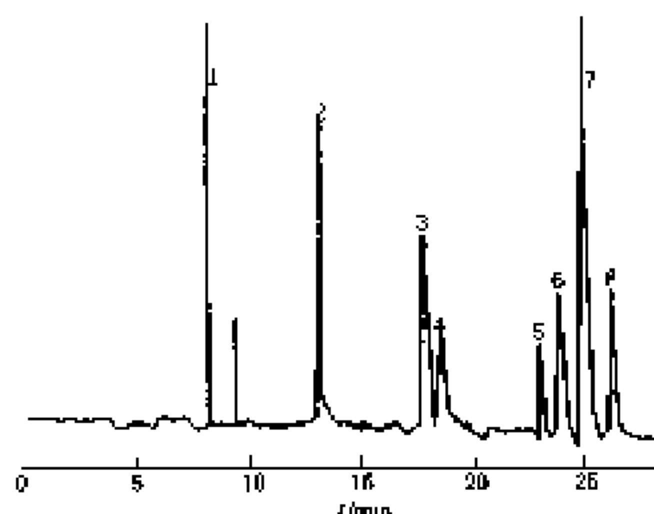


图 15-116 鸦片类毒品的 MECC 谱图[116]

色谱峰：1—咖啡因；2—吗啡；3—6-单乙酰吗啡；4—可待因；5—海洛因；6—乙酰可待因；7—罂粟碱；8—可卡因

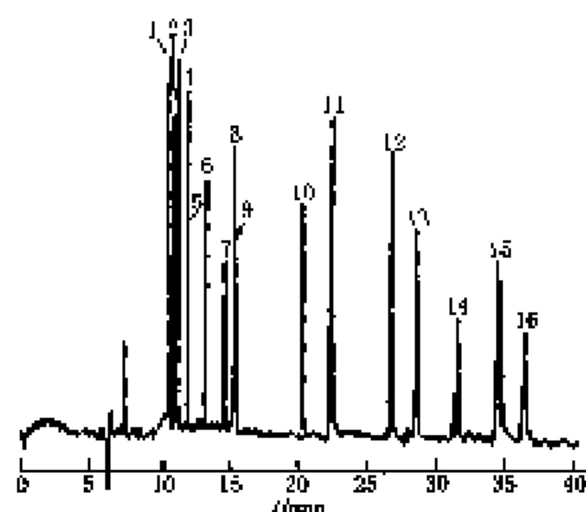
毛细管柱：有效长度 60 cm，总长度 84 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1}硼酸，25 mmol·L^{-1}SDS，10%甲醇（体积分数）

进　样：压差进样

电　压：25 kV

检测器：紫外（206 nm）



色谱峰：1—L-Pro；2—D-Pro；3—L-His；4—D-His；5—L-Tyr；6—L-PheG；7—D-Tyr；8—D-PheG；9—L-Phe；10—D-Phe；11—L-Trp；12—D-Trp；13—L-Lys；14—L-Arg；15—D-Lys；16—D-Arg

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 65 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：80 mmol·L^{-1}磷酸盐-硼酸盐，0.2 mol·L^{-1}SDS pH9.0

电　压：20 kV

检测器：紫外（210 nm）

图 15-117　氨基酸 GITC 衍生物的 MECC 谱图[117]

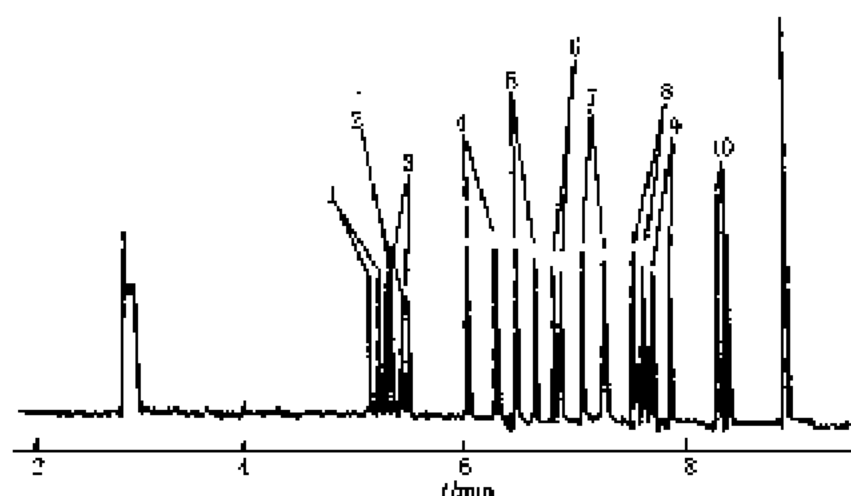
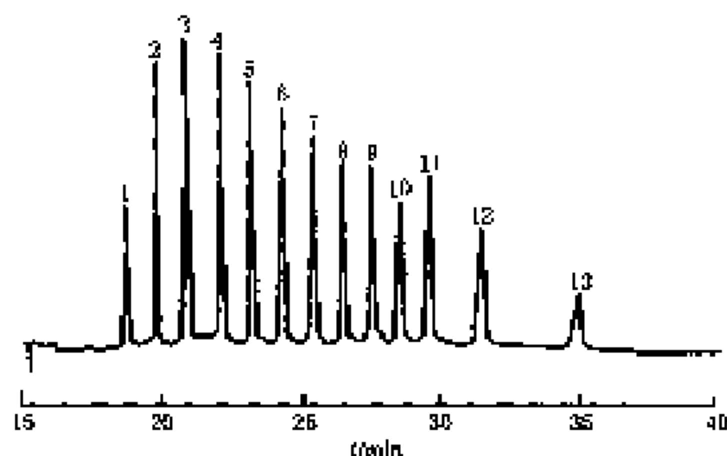


图 15-118　氨基酸-乙基氯甲酸乙酯衍生物的分析谱图[118]

色谱峰：1—Ser；2—Ala；3—Thr；4—Val；5—Nval；6—Met；7—Ile；8—Leu；9—Nle；10—Phe
毛细管柱：有效长度 45 cm，总长度 68 cm，内径 25 μm
缓冲溶液：20 mmol·L^{-1}硼酸盐，15 mmol·L^{-1}磷酸盐，20 mmol·L^{-1}SDS，pH9.2
温　度：25℃
电　压：25 kV
检测器：紫外（254 nm）



色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—乙苯；4—丙苯；5—丁苯；6—戊苯；7—己苯；8—庚苯；9—辛苯；10—壬苯；11—癸苯；12—十二烷基苯；13—十六烷基苯

毛细管柱：有效长度 50 cm

缓冲溶液：2.5 mmol·L^{-1}硼砂 5 mmol·L^{-1}磷酸二氢钠，50 mmol·L^{-1}SDS pH9 φ=40%异丙醇

进　样：压力进样

温　度：30℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（214 nm）

图 15-119　烷基苯混合物的 MEKC 谱图[119]

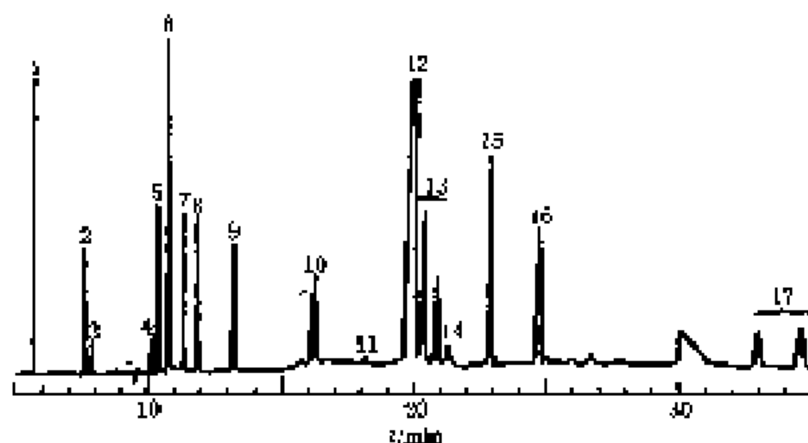


图 15-120 维生素及相关化合物的 MEKC 谱图[illegible]

色谱峰：1—胡芦巴碱酰胺；2—硫胺素；3—吡哆胺；4—溶剂色谱峰；5—烟酰胺；6—吡哆素；7—氰钴胺素；8—核黄素；9—NAD^+；10—吡哆醛磷酸盐；11—生物素；12—核黄素-5'-磷酸盐；13—核黄素-5'-磷酸盐杂质；14—抗坏血酸；15—$NADP^+$；16—叶酸；17—核黄素-5'-磷酸盐杂质

毛细管柱：有效柱长 56 cm，总柱长 64.5 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：100 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4，500 mmol·L^{-1}牛磺酸，75 mmol·L^{-1} NaCl 8% 1-丙醇

温　度：30℃

电　压：17 kV

检测器：紫外（214 nm）

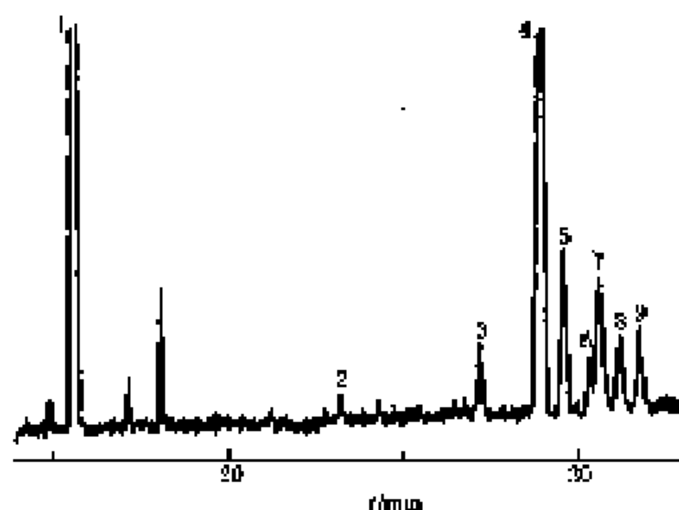


图 15-121 新鲜橙汁中氨基酸的 MEKC 谱图[illegible]

色谱峰：1—精氨酸；2—丙氨酸；3—丝氨酸；4—天冬酰胺；5—色氨酸；6—谷氨酸；7—苯丙氨酸；8—酪氨酸；9—脯氨酸

毛细管柱：有效柱长 100 cm，总柱长 108 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1} NaH_2PO_4，30 mmol·L^{-1}辛烷基磺酸，5%乙醇，pH2.35

进　样：15 s

电　压：30 kV

检测器：紫外（185 nm）

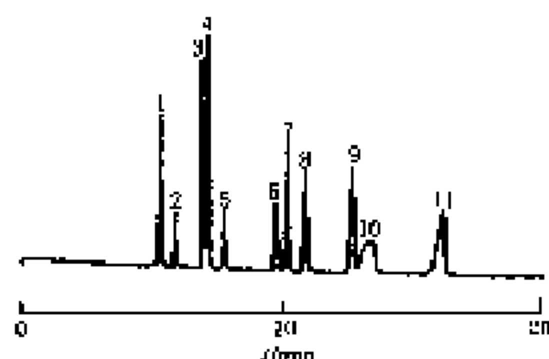


图 15-122 腺苷和腺核苷的电泳分离谱图[159]

色谱峰：1—腺苷；2—腺嘌呤；3—A⁵′pA；4—A²′pA；5—3′5′-CAMP；6—6²′ppA；7—3′-AMP；8—5′-AMP；9—2′-AMP；10—5′ADP；11—5′ATP

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：0.02 mol·L⁻¹ Na_2HPO_4，0.05 mol·L⁻¹ SDS，0.015 mol·L⁻¹ β-CD，10⁻⁴ mol·L⁻¹ $MgCl_2$

进 样：5 kPa，0.1 min

温 度：40℃

电 压：15 kV

检测器：紫外（260 nm）

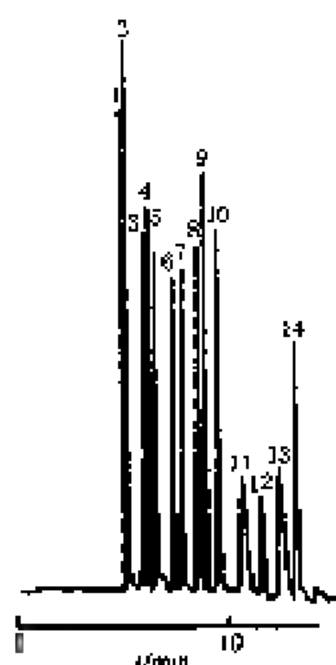


图 15-123 腺嘌呤和核苷磷酸盐的 MECC 谱图[159]

色谱峰：1—CMP；2—UMP；3—GMP；4—AMP；5—腺嘌呤；6—CAMP；7—CDP；8—UDP；9—GDP；10—ADP；11—CTP；12—UTP；13—GTP；14—ATP

毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 70 cm，内径 50 μm

进 样：15 cm，30 s

电 压：25 kV

检测器：紫外

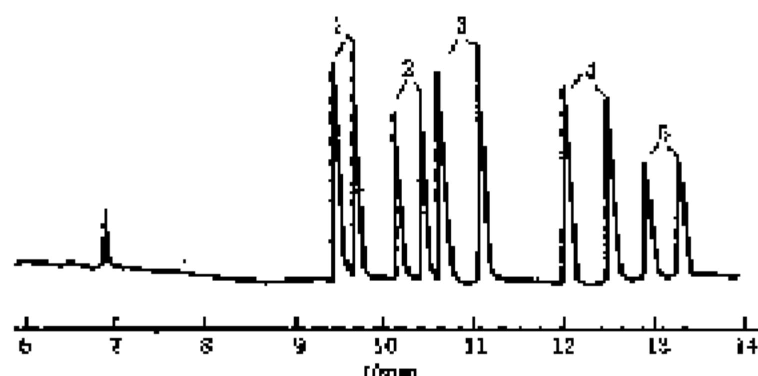
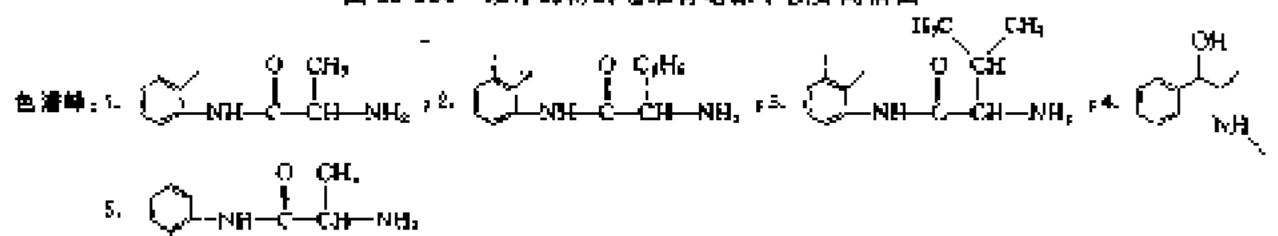


图 15-124 手性药物的毛细管电泳手性分离谱图[160]



毛细管柱：有效长度 43 cm，总长度 58 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L⁻¹ DM β-CD，40 mmol·L⁻¹ 磷酸盐，pH3.0

温 度：20℃

电 压：30 kV

检测器：紫外（210 nm）

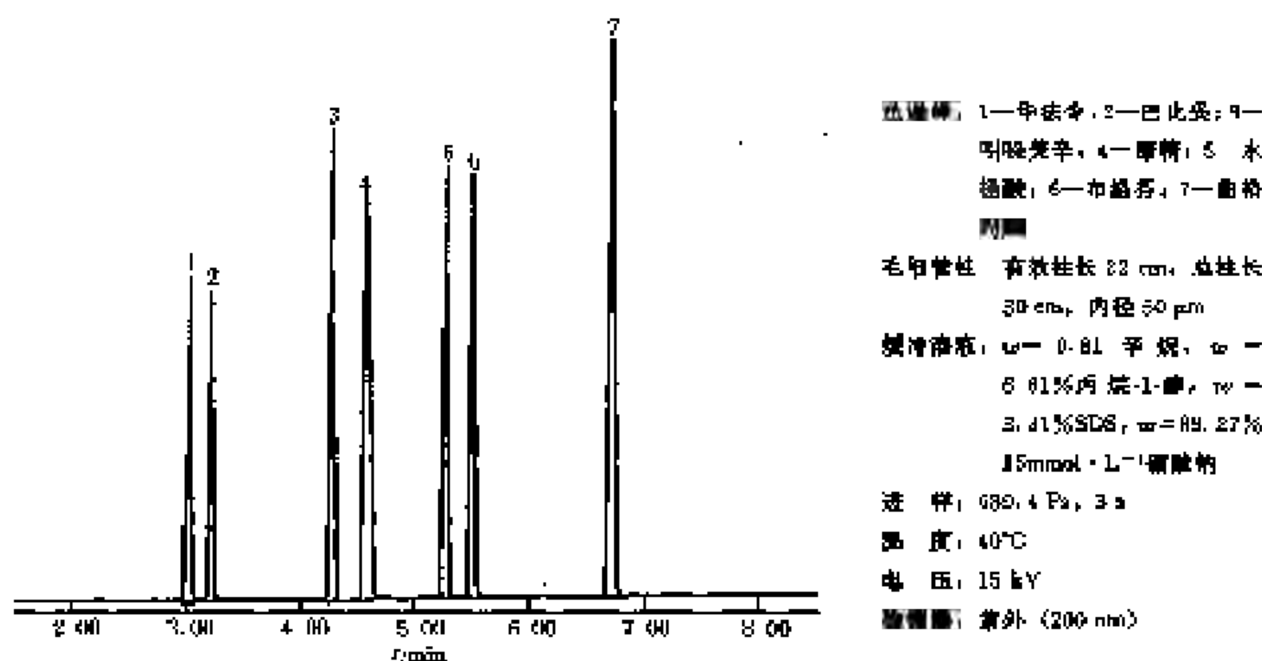


图 15-125　酸性药物的 MECC 谱图

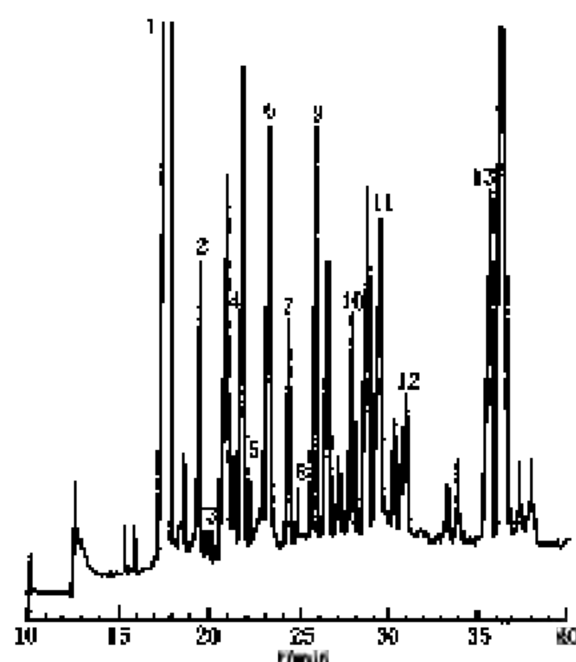


图 15-126　癌症患者尿中提取的正常和修饰核苷的 MEKC 谱图

色谱峰：1—Pseu；2—U；3—C；4—mU；5—I；6—MII；7—ac4C；8—mG；9—G；10—A；11—3-Dau；12—X；13—m2G

毛细管柱：有效柱长 43.75 cm，总柱长 50.0 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：300 mmol·L⁻¹SDS-25 mmol·L⁻¹四硼酸盐-50mmol·L⁻¹磷酸盐，pH6.7

进　样：重力进样，100 mm，45 s

电　压：7.0 kV

检测器：紫外 (260 nm)

第三节　毛细管电色谱谱图

一、毛细管电色谱柱评价谱图[1]

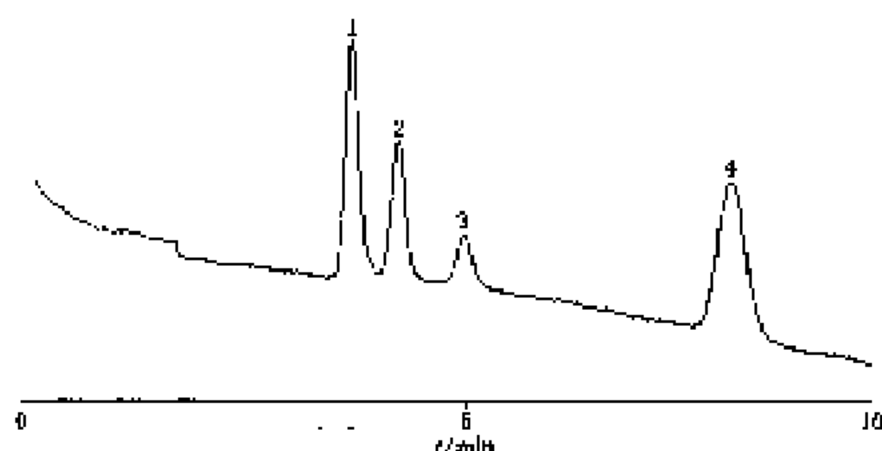


图 15-127　C_8 柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 C_8（SAMMS）

流动相：乙腈+1mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比=70∶30）

进　样：2kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

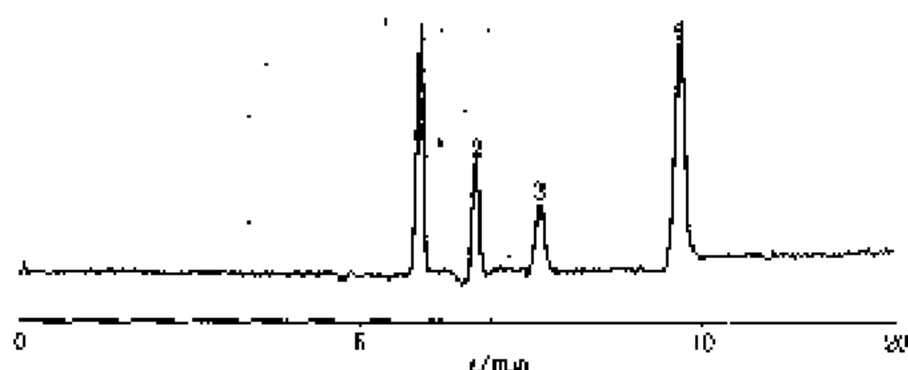


图 15-128　C_1 柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 5μm C_1

流动相：乙腈+10mmol·L⁻¹MES（体积比=70∶30）

进　样：1kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

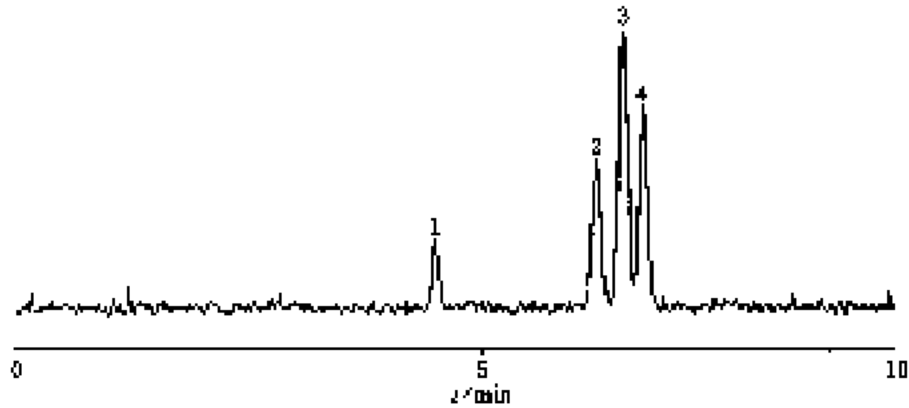


图 15-129　C_8柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—杂质；2—芴；3—菲；4—蒽

色谱柱：内径75μm，外径360μm，填料有效长度20cm，内填3μm C_8

流动相：乙腈＋10mmol·L⁻¹MES（体积比＝70：30）

进　样：5kV/3s

运行电压：15kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}254nm，λ_{em}370nm

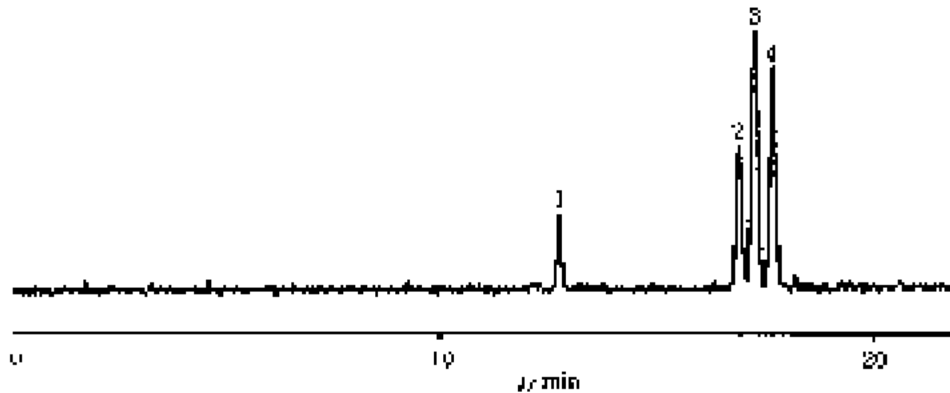


图 15-130　C_8柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—杂质；2—芴；3—菲；4—蒽

色谱柱：内径100μm，外径360μm，填料有效长度50cm，内填3μm C_8

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：10kV/4s

运行电压：20kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}254nm，λ_{em}370nm

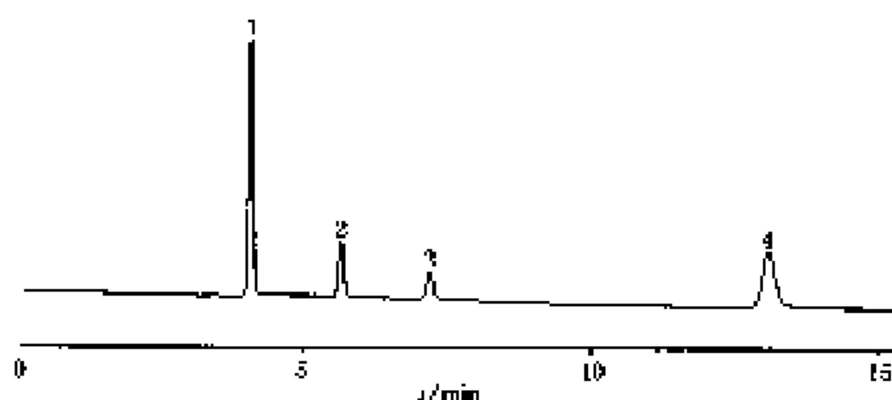


图 15-131 C_{18}柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 19cm，内填 5μm C_{18}

流动相：乙腈＋10mmol·L^{-1}TRIS（体积比＝70：30）

进　样：3kV/5s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

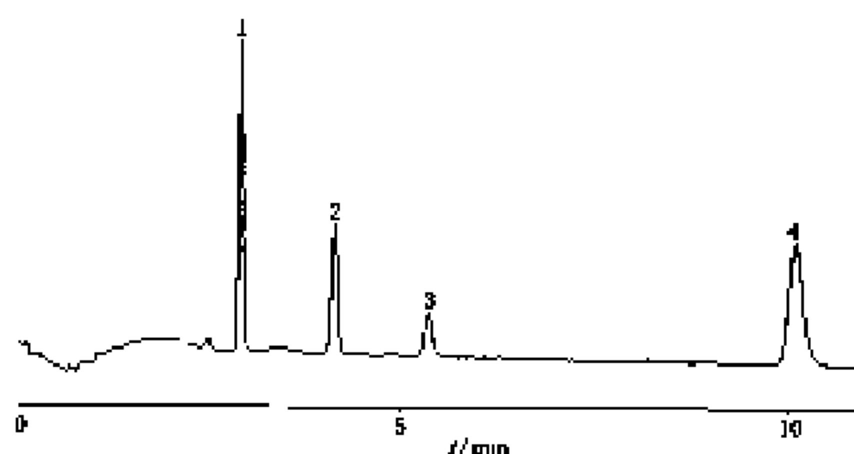


图 15-132 C_{12}柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 5μm C_{12}

流动相：乙腈＋1mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝70：30）

进　样：10kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

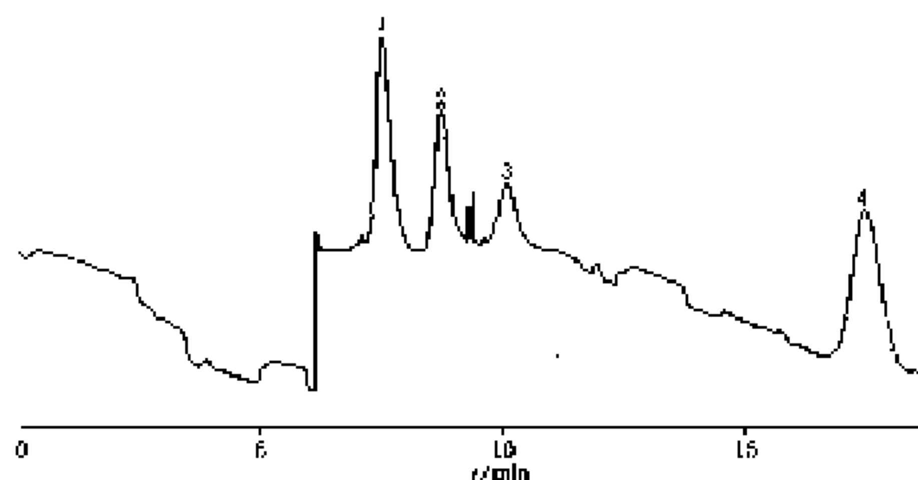


图 15-133　C_{18}柱评价色谱图（三）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲酮；4—萘

色谱柱：内径75μm、外径360μm、填料有效长度20cm、内填5μm C_{18}（SAMBS）

流动相：乙腈－4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝70∶30）

进　样：5kV/2s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

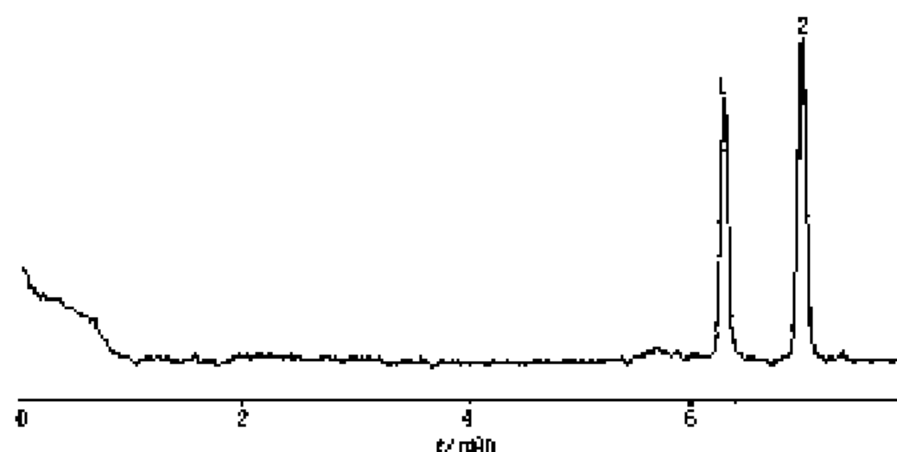


图 15-134　C_{18}柱评价色谱图

色谱峰：1—芴；2—菲

色谱柱：内径100μm、外径360μm，填料有效长度25cm、内填1.5μm C_{18}（NPS）

流动相：乙腈＋1mmol·L^{-1}TRIS（体积比＝70∶30）

进　样：5kV/2s

运行电压：20kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}254nm，λ_{em}370nm

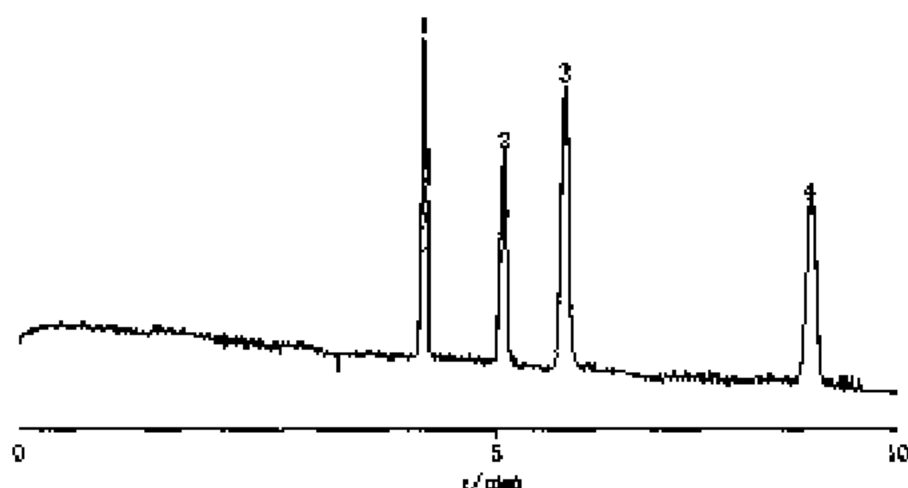


图 15-136 C_{18}柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醚；4—萘

色谱柱：内径 50μm，外径 360μm；填料有效长度 20cm；内填 3μm ODS-Ⅰ

流动相：乙腈+1mmol·L⁻¹TRIS（体积比=70：30）

进　样：5kV/2s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

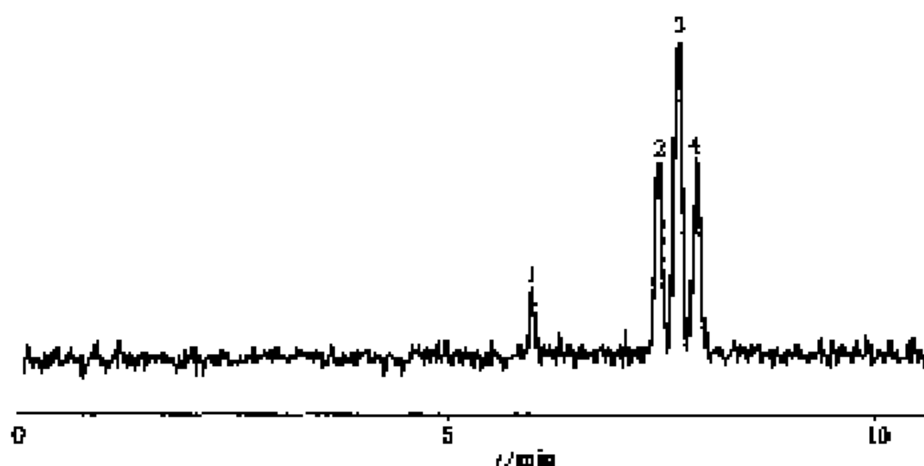


图 15-136 C_{18}柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—杂质；2—芴；3—菲；4—芘

色谱柱：内径 75μm、外径 360μm、填料有效长度 30cm、内填 3μm C_{18}（PHS）

流动相：乙腈+4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比=80：20）

进　样：3kV/2s

运行电压：15kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}264nm、λ_{em}370nm

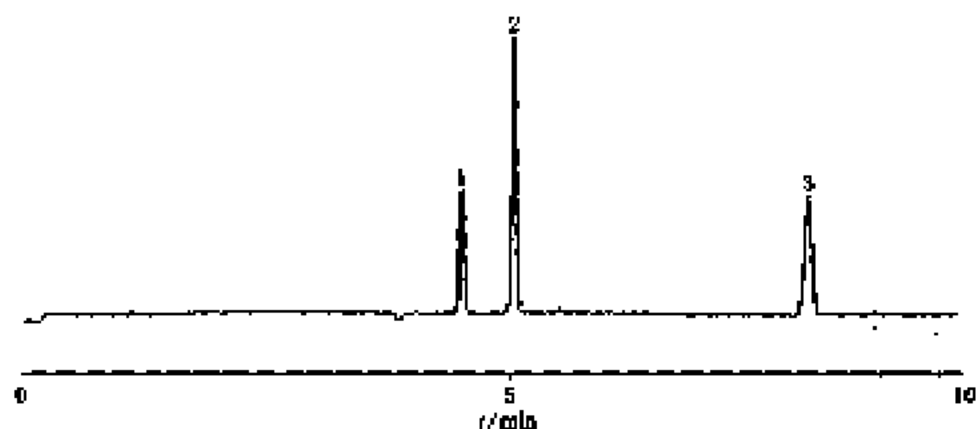


图 15-137　C_{18}柱评价色谱图（三）

色谱峰：1—苯甲醇；2—苯甲醇；3—苯

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 2μm C_{18}（2）

流动相：乙腈+10mmol·L^{-1}TRIS（体积比=80∶20）

进　样：10kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

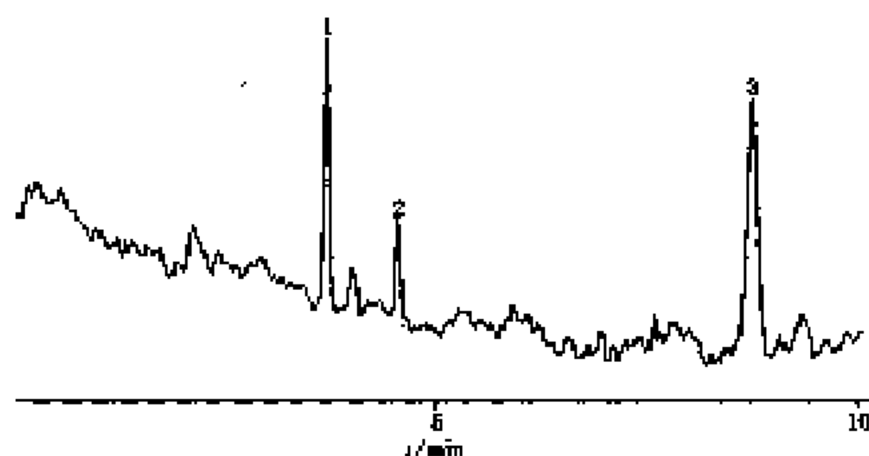


图 15-138　C_{18}柱评价色谱图（四）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 3μm C_{18}（4）

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=70∶30）

进　样：1kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

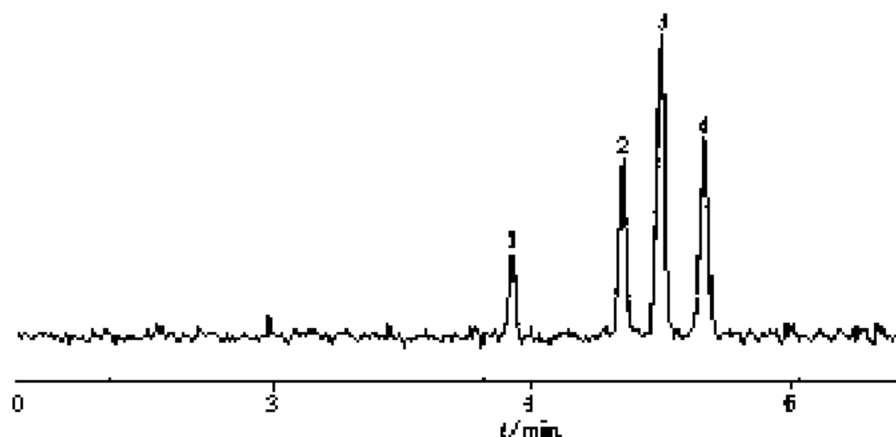


图 15-139　C_{18}柱评价色谱图（五）

色谱峰　1—萘胺，2—芴；3—菲；4—蒽

色谱柱：内径 50μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 3μm C_{18}（PAH）

流动相：乙腈+4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比=80：20）

进　样：5kV/2s

运行电压：20kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}254nm，λ_{em}370nm

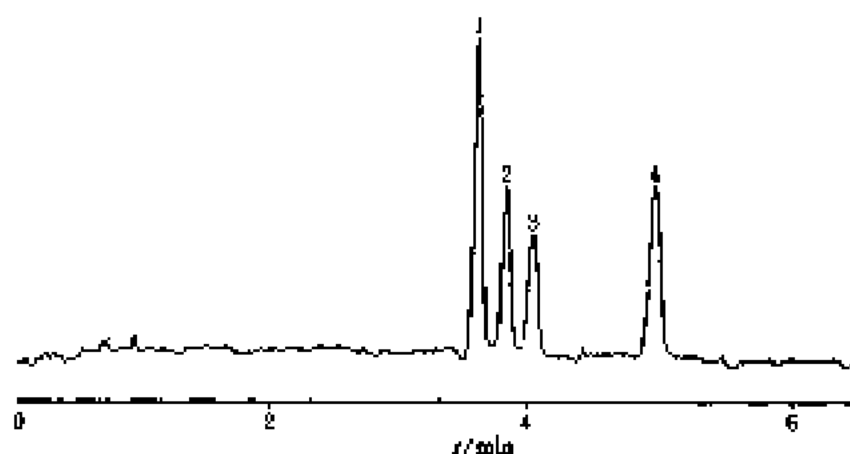


图 15-140　C_{18}柱评价色谱图（六）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 21cm，内填 6μm C_{18}

流动相：乙腈+4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比=80：20）

进　样：5kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

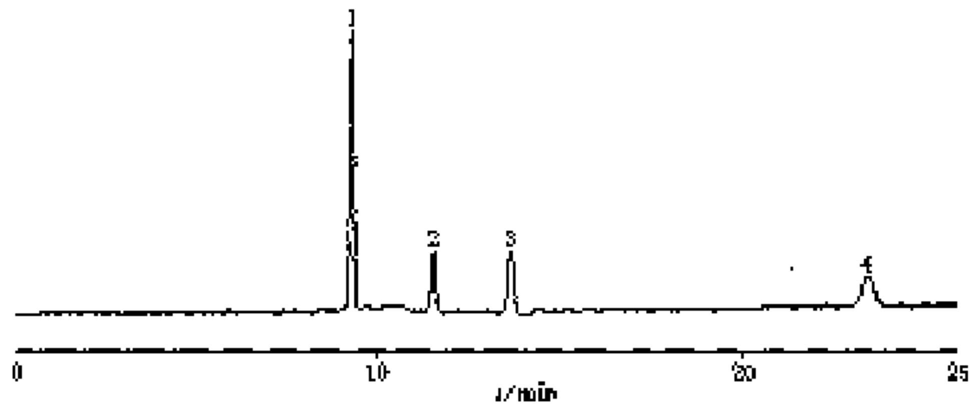


图15-141　C_{18}柱评价色谱图（七）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径100μm，外径360μm，填料有效长度35cm，内填3μm C_{18}（L）

流动相：乙腈＋1mmol·L^{-1}MES（体积比＝80∶20）

进　样：10kV/1s

运行电压：20kV

检测器：UV（254nm）

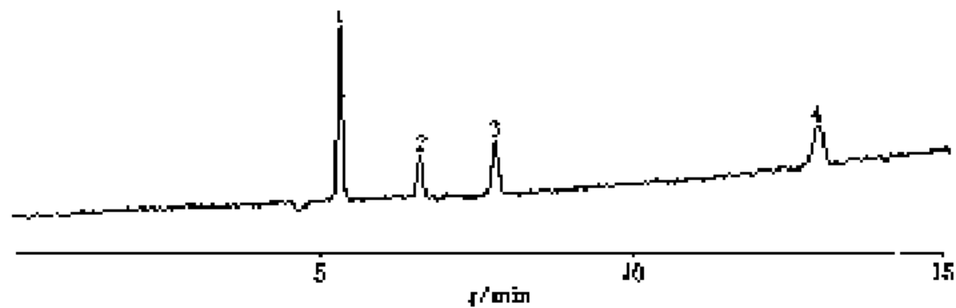


图15-142　C_{18}柱评价色谱图（八）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径75μm，外径360μm，填料有效长度20cm，内填3μm C_{18}（QA）

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80∶20）

进　样：10kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

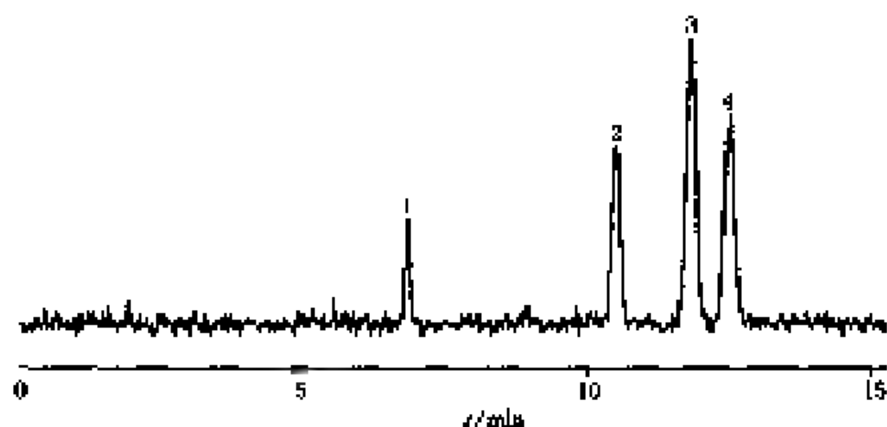


图 15-143　C_{18}柱评价色谱图（九）

色谱峰：1—杂质；2—萘；3—菲；4—蒽

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 21cm，内填 3μm C_{18}（B）

流动相：乙腈＋1mmol・L^{-1}MES（体积比＝80：20）

进　样：10kV/3s

运行电压：15kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}254nm，λ_{em}370nm

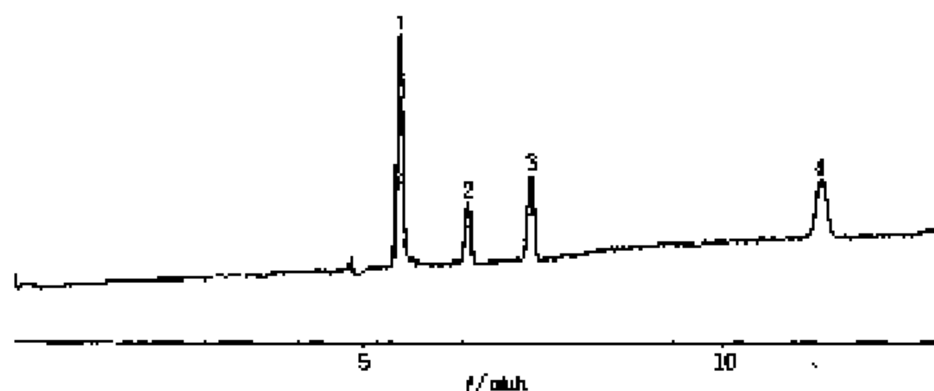


图 15-144　C_{18}柱评价色谱图（十）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 21cm，内填 3μm C_{18}（B）

流动相：乙腈＋4mmol・L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：10kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

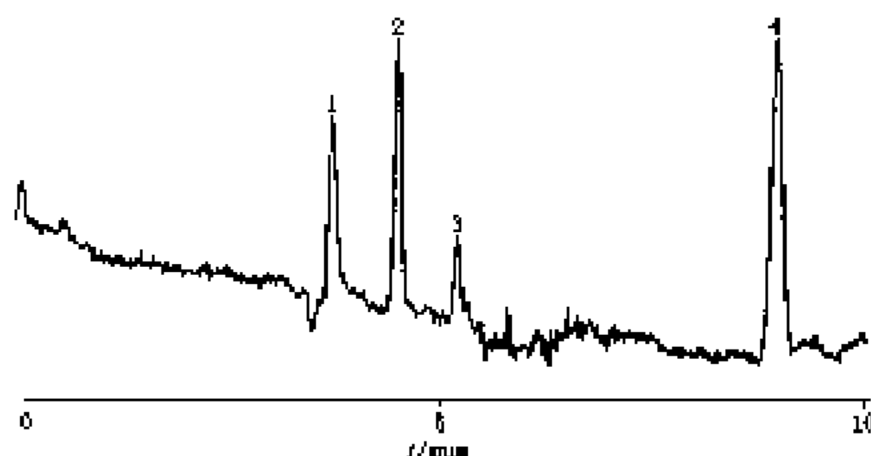


图 15-145　C_{18}柱评价色谱图（十一）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 3.5μm C_{18}（UNENDCAPPED）

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80∶20）

进　样：5kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

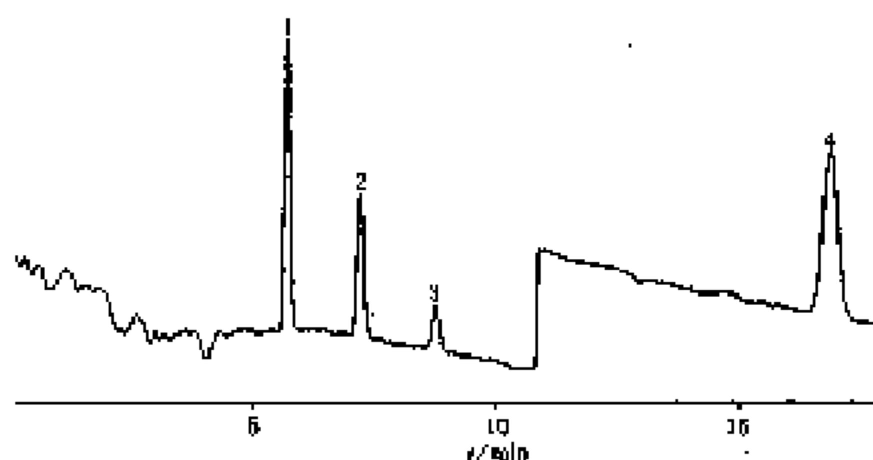


图 15-146　C_{18}柱评价色谱图（十二）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 3.5μm C_{18}（BASEDEACTIVED）

流动相：乙腈＋10mmol·L^{-1}TRIS（体积比＝80∶20）

进　样：2.5kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

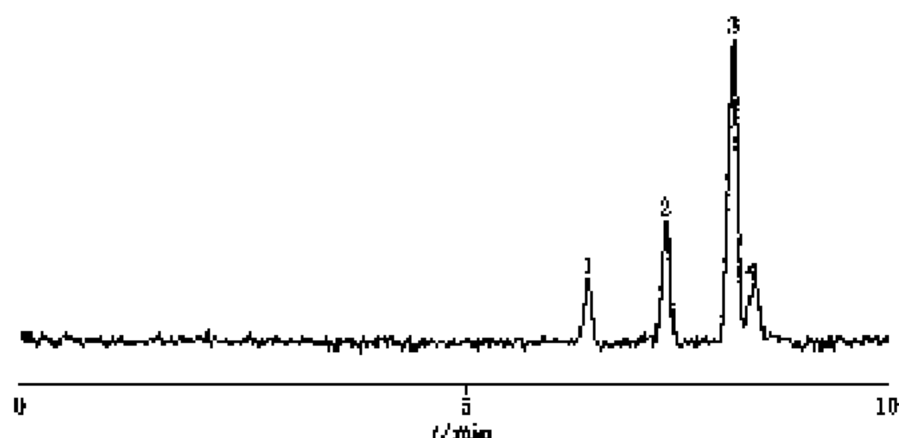


图 15-147　C_{18}柱评价色谱图（十三）

色谱峰：1—萘胺；2—芴；3—蒽；4—芘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 5μm C_{18}（PRISM）

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=80:20）

进　样：5kV/1s

运行电压：15kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}=254nm，λ_{em}=370nm

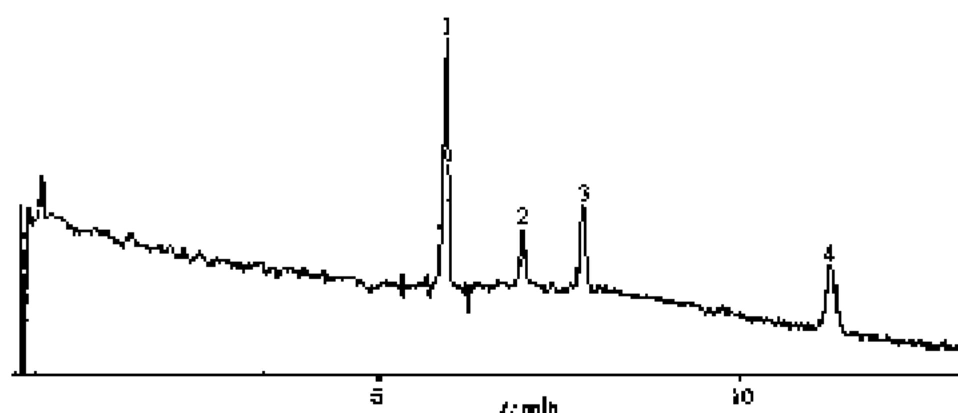


图 15-148　C_{18}柱评价色谱图（十四）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 50μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 5μm C_{18}（AQUASIL）

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=80:20）

进　样：15kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

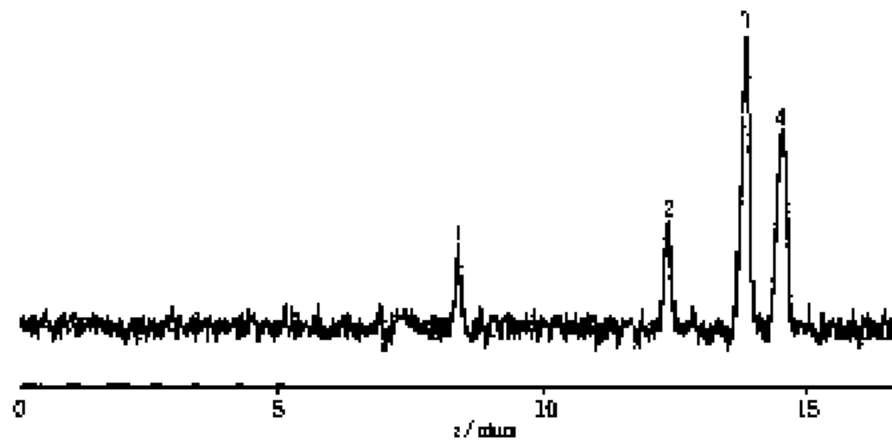


图 15-149 C_{18}柱评价色谱图（十五）

色谱峰：1—萘酚；2—芴；3—菲；4—蒽

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 45cm，内填 5μm C_{18}（AQUASIL）

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：25kV/1s

运行电压：20kV

检　测：荧光检测器　λ_{ex}＝254nm，λ_{em}＝370nm

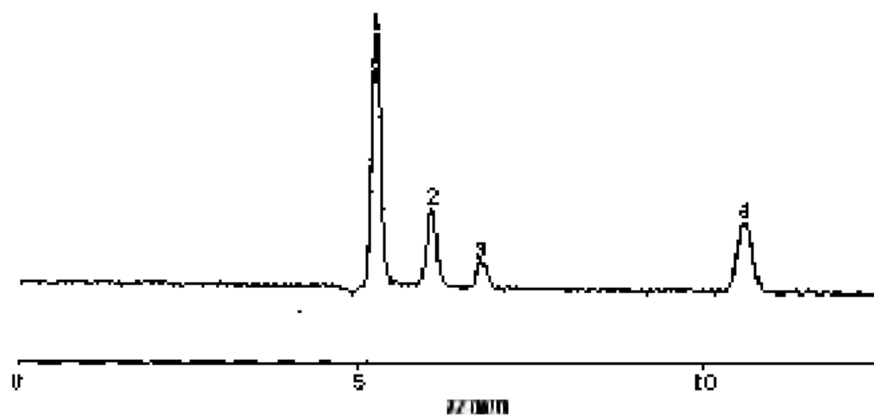


图 15-150 C_{18}柱评价色谱图（十六）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 5μm C_{18}（BASE）

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：10kV/2s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

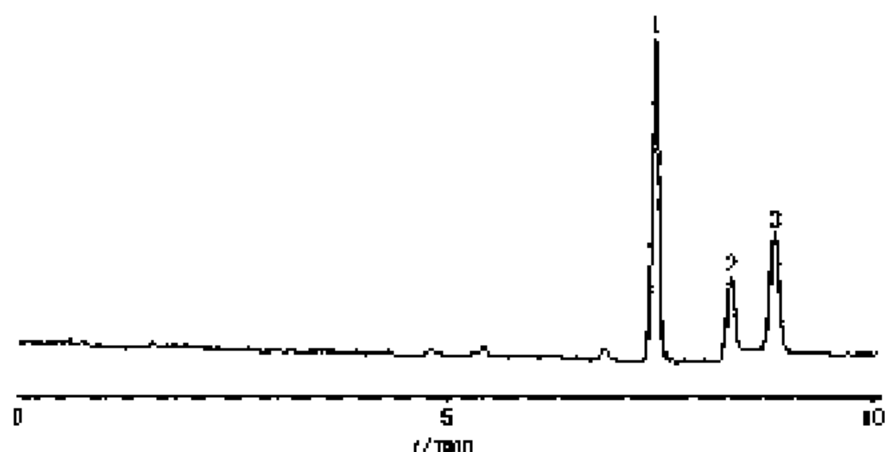


图15-151　C_{18}柱评价色谱图（十七）

色谱峰：1—萘，2—芴，3—蒽

色谱柱：内径75μm，外径360μm，填料有效长度25cm，内填3μm C_{18}（I-SS）

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=80∶20）

进　样：5kV/1s

运行电压：20kV

检测器：UV（254nm）

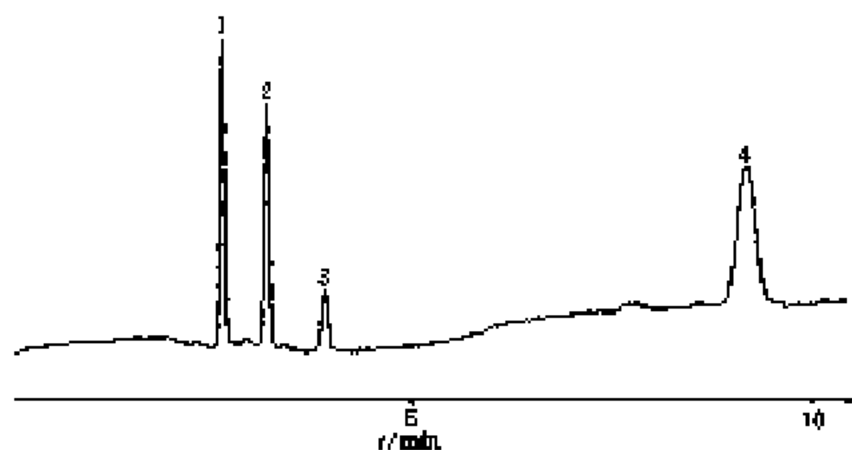


图15-152　C_{18}柱评价色谱图（十八）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径100μm，外径360μm，填料有效长度9cm，内填3μm C_{18}（PAH）

流动相：乙腈+1mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=50∶50）

进　样：5kV/1s

运行电压：5kV

检测器：UV（254nm）

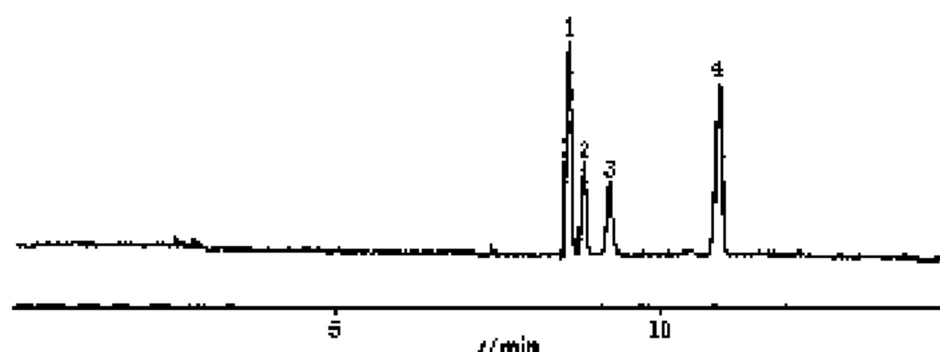


图 15-153　C_{18}柱（AAPI）评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm、外径 360μm，填料有效长度 40cm，内填 3μm C_{18}（PAH）

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：10kV/2s

运行电压：20kV

检测器：UV（254nm）

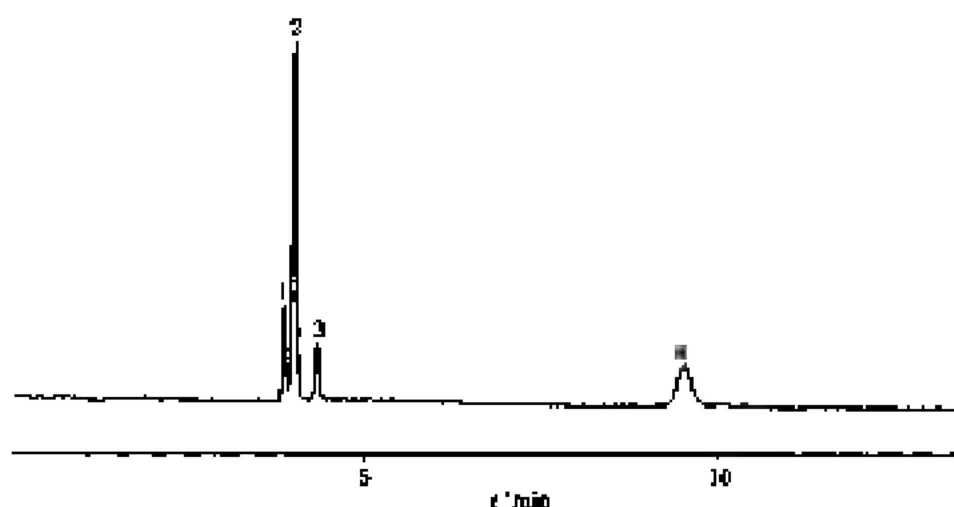


图 15-154　无孔 C_{11}柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm、外径 360μm，填料有效长度 26cm、内填 1.5μm C_{18}（NPS-EC）

流动相：乙腈＋10mmol·L^{-1}TRIS（体积比＝50：50）

进　样：5kV/2s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

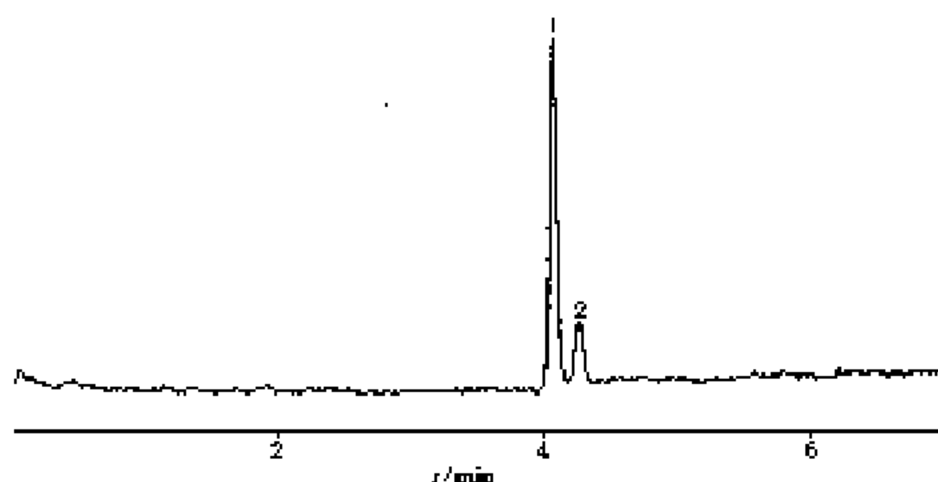


图 15-155　无孔 C_{18}柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—硫脲；2—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 3μm C_{18}（NPS-EC）

流动相：乙腈＋10mmol・L^{-1}TRIS（体积比＝80：20）

进　样：5kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

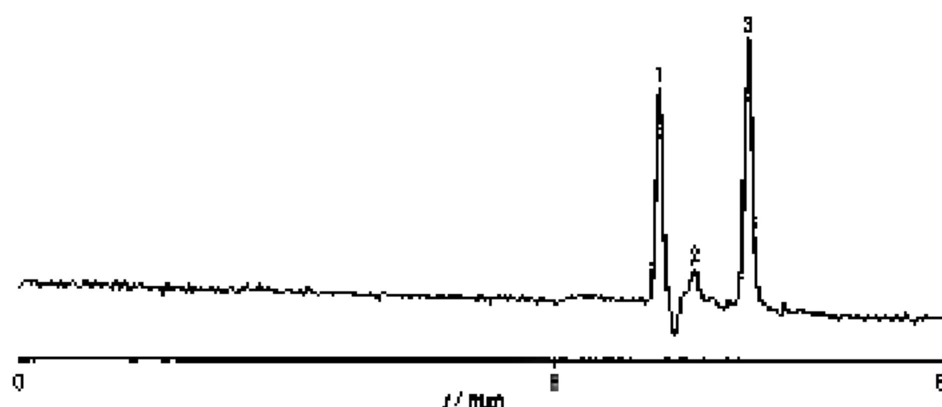


图 15-156　无孔 C_{18}柱评价色谱图（三）

色谱峰：1—硫脲；2—杂质；3—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 3μm C_{18}（NPS）

流动相：乙腈＋1mmol・L^{-1}MES（体积比＝80：20）

进　样：5kV/1s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

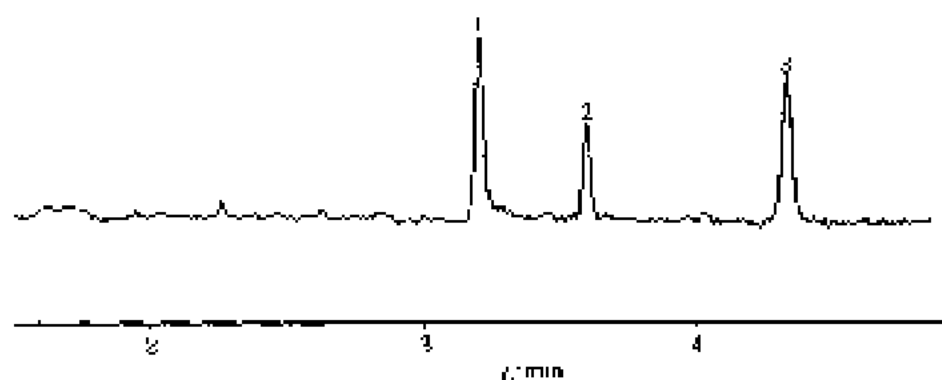


图 15-157　无孔 C_{18}柱评价色谱图（四）

色谱峰：1—硫脲；2—萘；3—蒽

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 1.5μm C_{18}（NPS）

流动相：乙腈+0.1mmol·L^{-1}MPS（体积比=70:30）

进　样：2.5kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

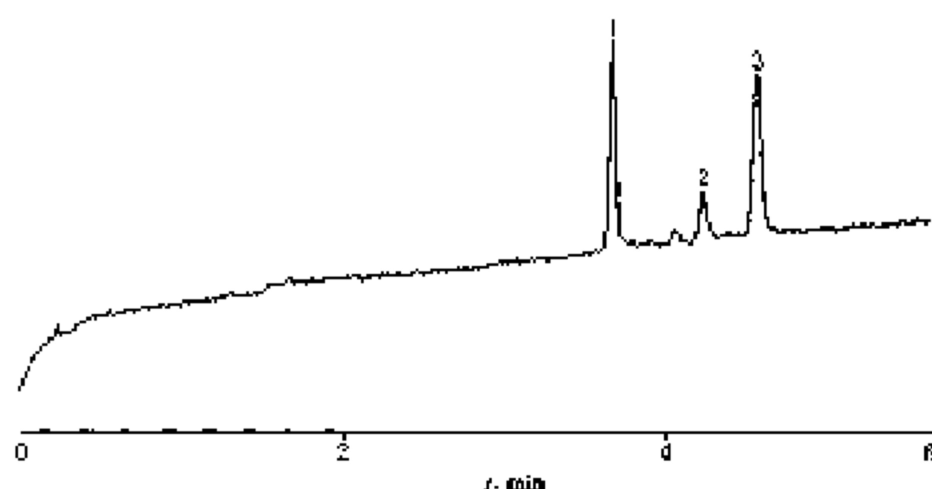


图 15-158　无孔 C_{18}柱评价色谱图（五）

色谱峰：1—硫脲；2—杂质；3—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 1.5μm C_{18}（NPS）

流动相：乙腈+1mmol·L^{-1}MES（体积比=60:40）

进　样：1kV/1s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

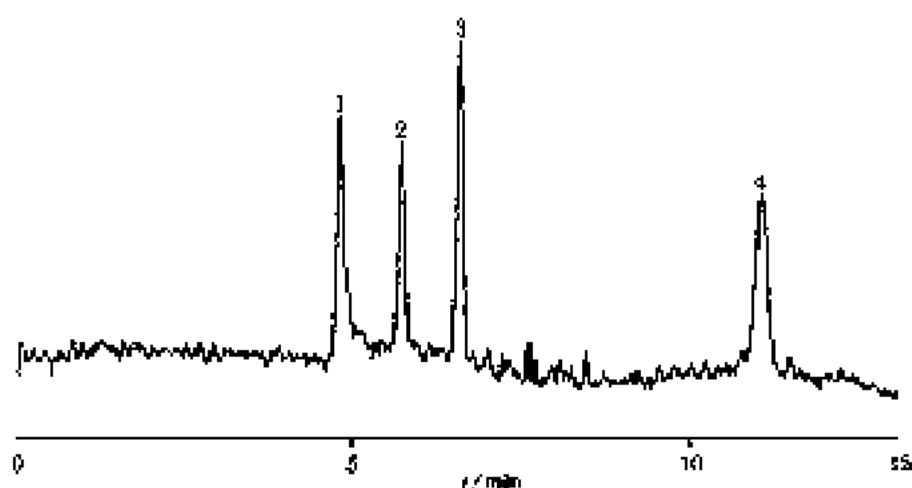


图 15-159 C_{30}柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲，2—苯甲醚，3—苯甲酮，4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 5μm C_{30}

流动相：乙腈+10mmol·L^{-1}TRIS（体积比=80∶20）

进　样：5kV/2s

运行电压：15kV

检测器：UV（254nm）

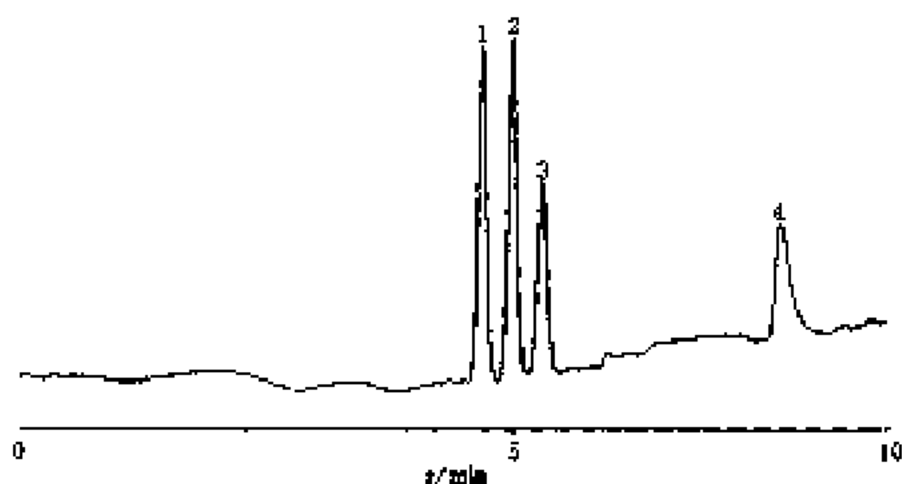


图 15-160 生物手性（CBV）柱评价色谱图

色谱峰：1—萘，2—苯甲醚，3—苯甲酮，4—硫脲

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 5μm CBV

流动相：乙腈+10mmol·L^{-1}TEAA（体积比=80∶20）

进　样：5kV/2s

运行电压：10kV

检测器：UV（254nm）

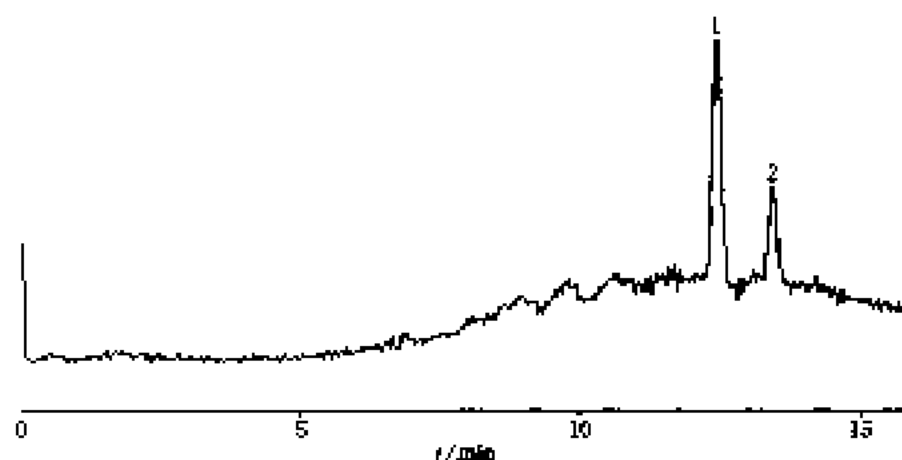


图 15-161　环糊精手性（CD-12000）柱评价色谱图

色谱峰：1—萘；2—苯甲醇

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 40cm，内填 5μm CD-12000

流动相：乙腈+甲醇+100mmol·L^{-1}TEAA（体积比=90∶5∶5）

进　样：10kV/2s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

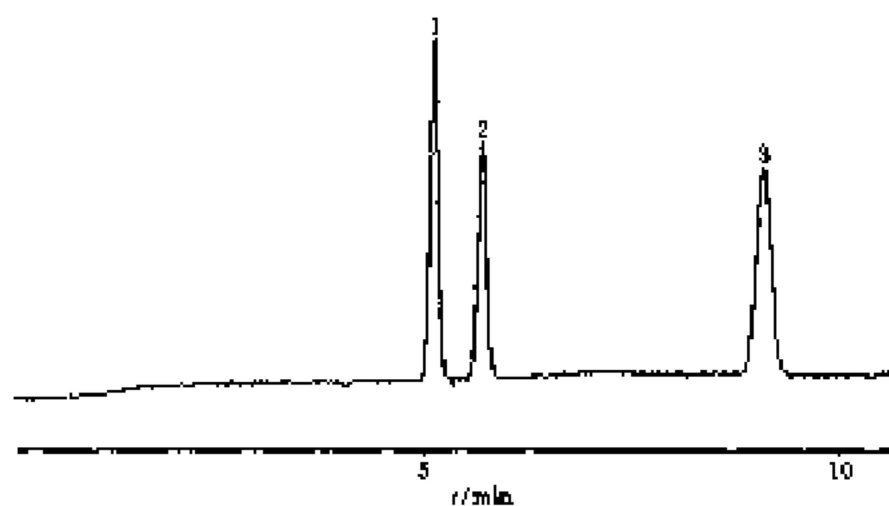


图 15-162　手性（CH）柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—苯甲醇；2—苯甲醛；3—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 15cm，内填 7μm CH

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=70∶30）

进　样：10kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

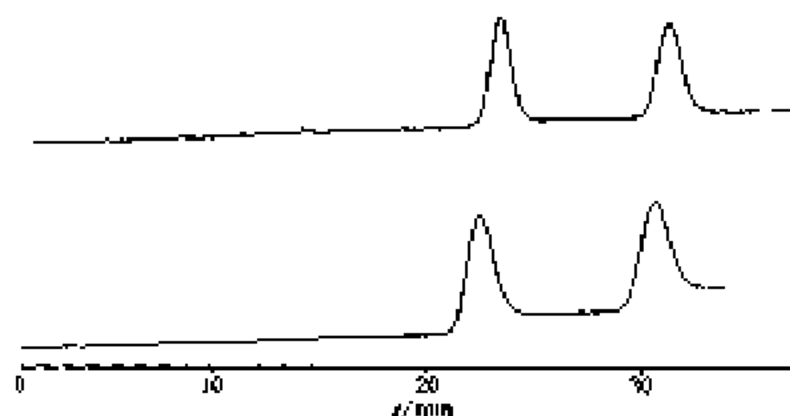


图 15-163　手性（CH）柱评价色谱图（二）

色谱峰：二苯乙醇酮

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 35cm，内填 7μm CH

流动相：乙腈＋水＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝40：50：10）

进　样：15kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

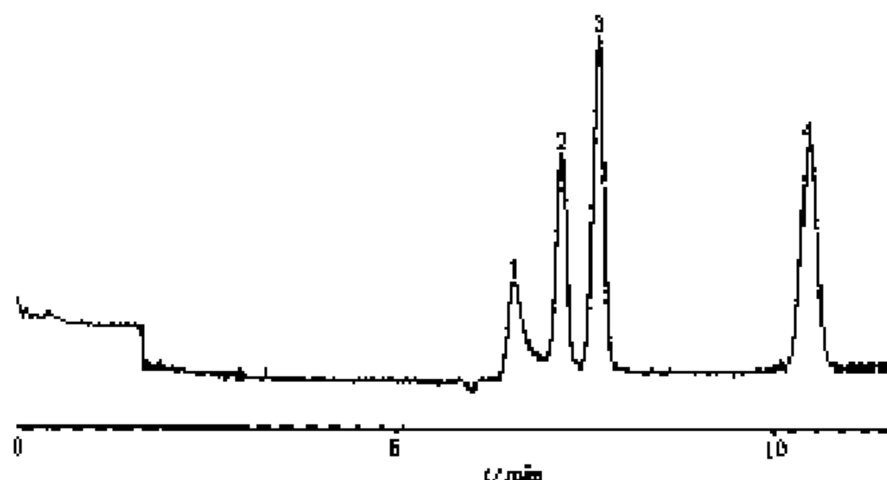


图 15-164　手性（CH）柱评价色谱图（三）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 7μm CH

流动相：乙腈＋1mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：2.5kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

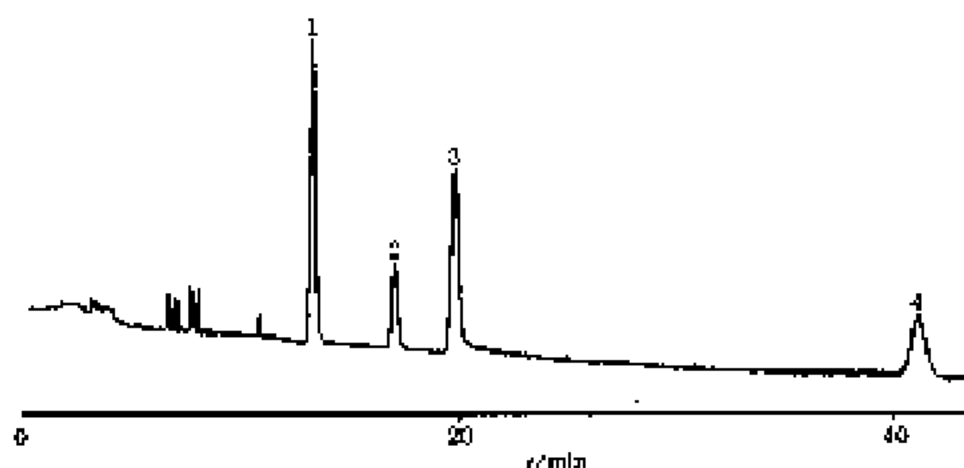


图 15-165　手性纤维素（CHODR）柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 CHODR

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝70∶30）

进　样：10kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

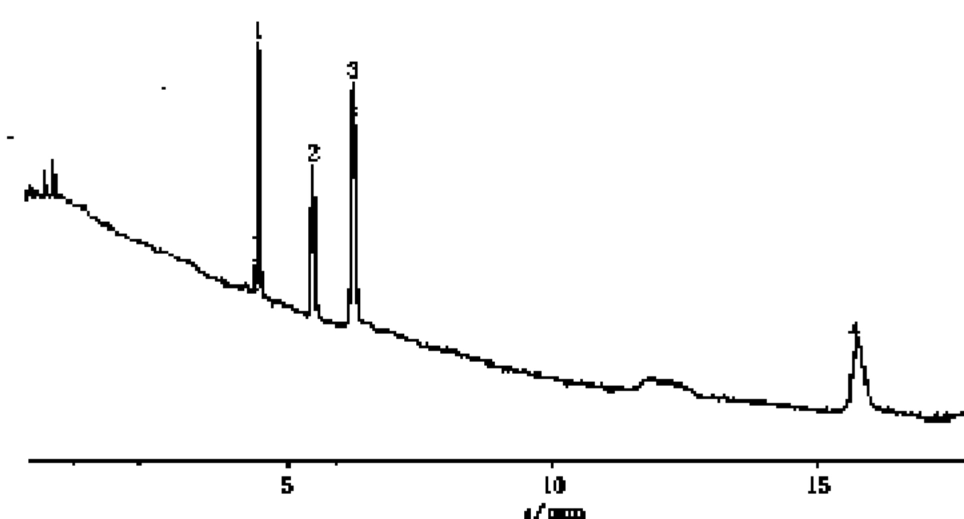


图 15-166　手性纤维素（CHOJR）柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 CHOJR

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝70∶30）

进　样：5kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）



图 15-167　离子交换树脂（SCX）柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—盐酸巴马汀；2—盐酸小檗碱

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 6μm SCX

流动相：乙腈+100mmol·L⁻¹磷酸二氢钠+1mol·L⁻¹磷酸（体积比=60∶30∶10）

进　样：2.5kV·1s

运行电压：5kV

检　测：UV（254nm）

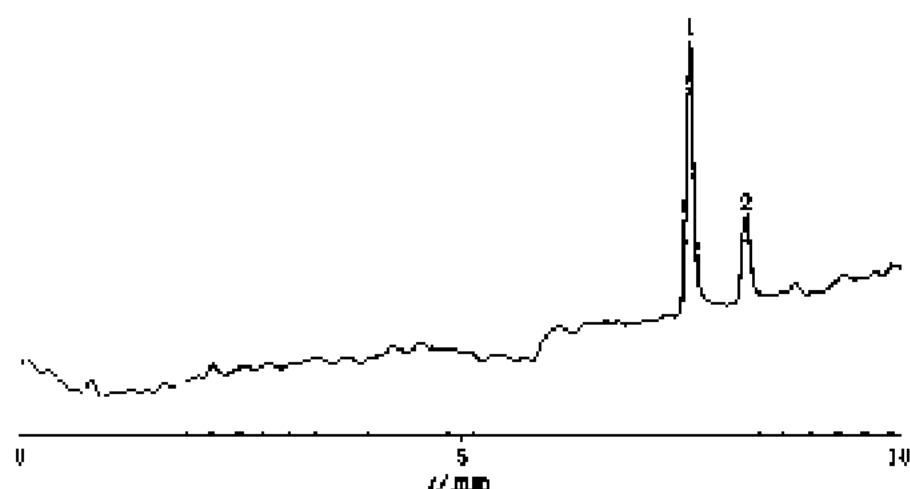


图 15-168　离子交换树脂（SCX）柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—盐酸巴马汀；2—盐酸小檗碱

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 6μm SCX

流动相：乙腈+100mmol·L⁻¹磷酸二氢钠+1mmol·L⁻¹磷酸（体积比=60∶30∶10）

进　样：5kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

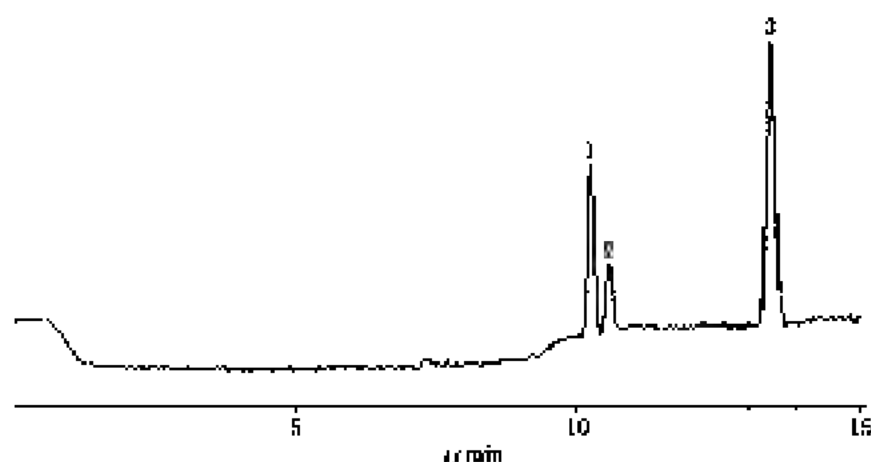


图 15-169　离子交换树脂（WAX）柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 35cm，内填 5μm WAX

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=70∶30）

进　样　10kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

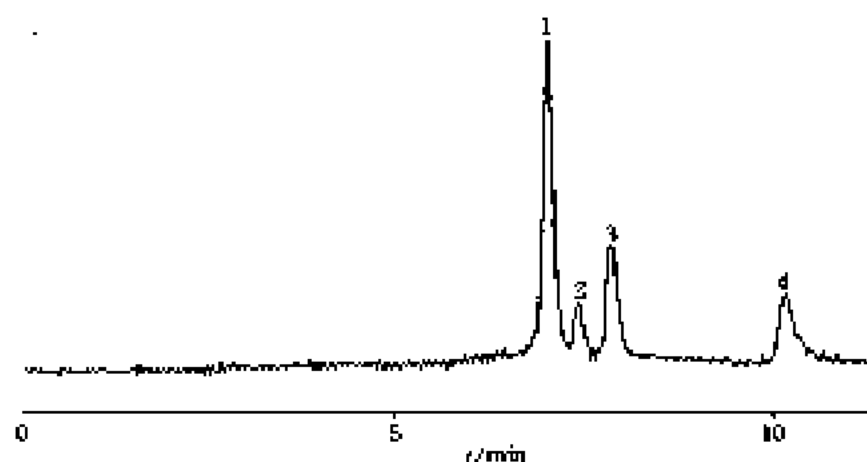


图 15-170　氨基（NH_2）柱评价色谱图（　）

色谱峰：1—苯；2—苯甲醛；3—苯甲醇；4—硫脲

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 7μm NH_2

流动相：乙腈+10mmol·L^{-1}醋酸+7.7mmol·L^{-1}三氟乙酸（体积比=80∶10∶10）

进　样：5kV/1s

运行电压：5kV

检　测：UV（254nm）

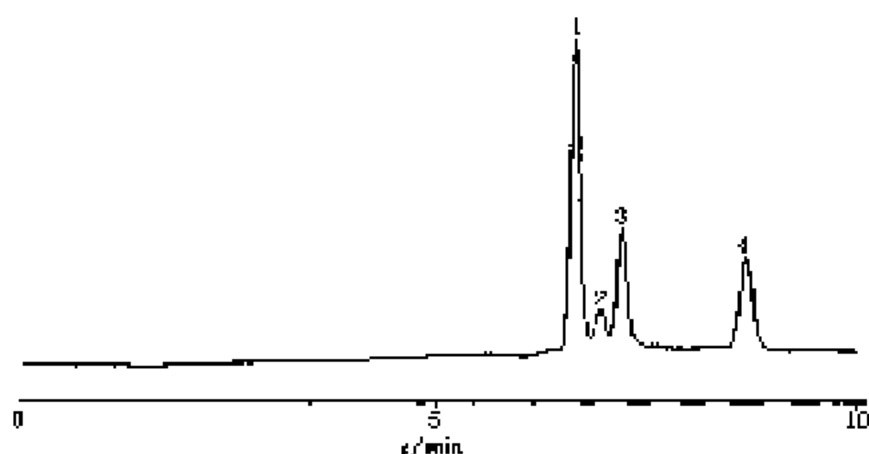


图 15-171　氨基（NH_2）柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—苯；2—苯甲醛；3—苯甲醇；4—硫脲

色谱柱：内径100μm，外径360μm，填料有效长度20cm，内填3μm NH_2

流动相：乙腈+10mmol·L^{-1}醋酸+7.7mmol·L^{-1}三氟乙酸（体积比=80：10：10）

进　样：2.5kV/1s

运行电压：5kV

检　测：UV（254nm）

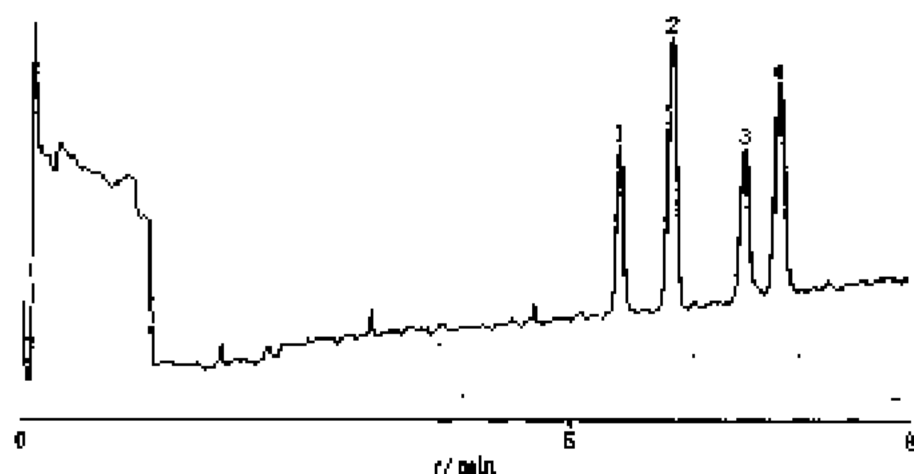


图 15-172　苯基（PH）柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径100μm，外径360μm，填料有效长度25cm，内填3μm PH

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}磷酸水溶液（体积比=70：30）

进　样：2.5kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

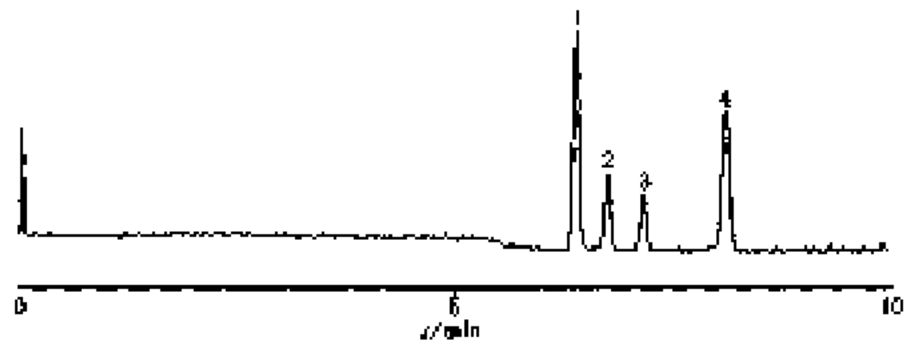


图15-173　苯基（PH）柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径75μm，外径360μm，填料有效长度30cm，内填3μm PH

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=70:30）

进　样：5kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

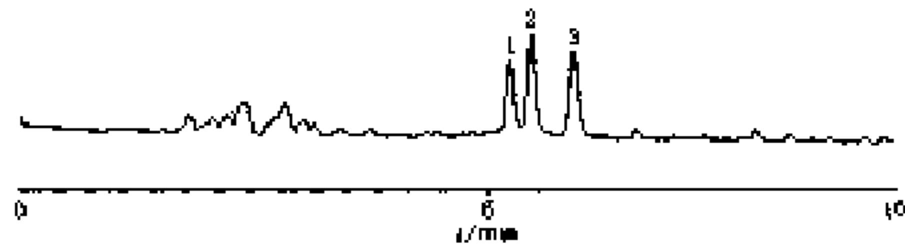


图15-174　氰基（CN）柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—苯甲醇；2—苯甲醛；3—萘

色谱柱：内径75μm，外径360μm，填料有效长度20cm，内填3μm CN

流动相：乙腈+4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比=50:50）

进　样：5kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

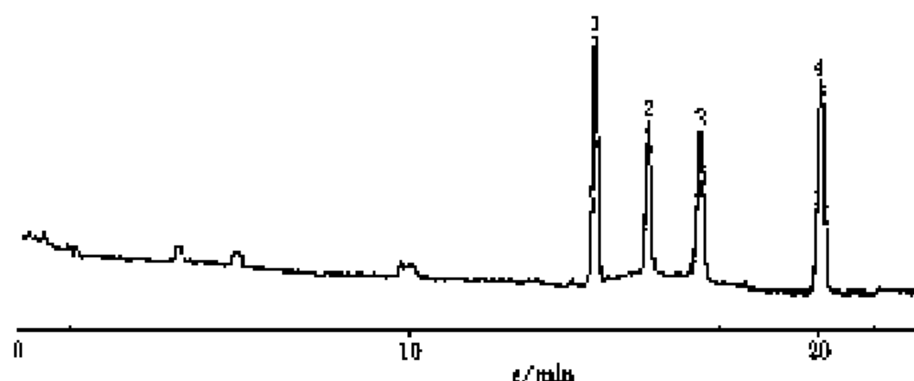


图 15-175　氰基（CN）柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 45cm，内填 3μm CN

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝60：50）

进　样：10kV/2s

运行电压：20kV

检　测：UV（254nm）

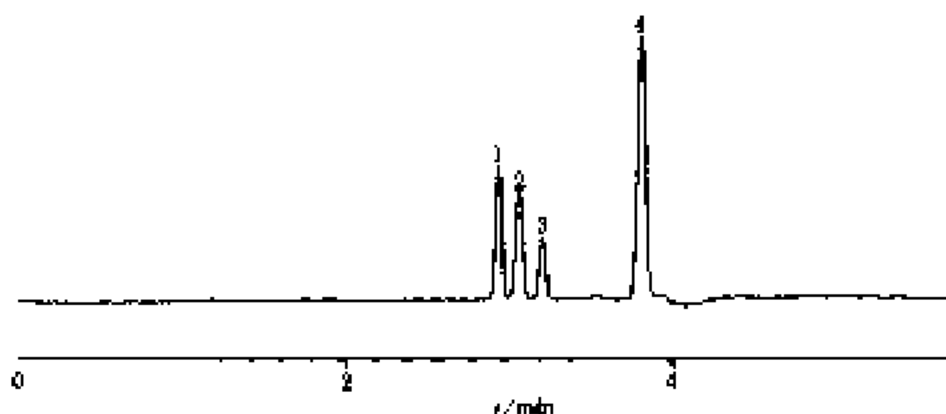


图 15-176　硅胶（SI）柱评价色谱图（一）

色谱峰：1—萘；2—苯甲醛；3—苯甲醇；4—硫脲

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 20cm，内填 3μm SI

流动相：乙腈＋4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比＝90：10）

进　样：10kV/1s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

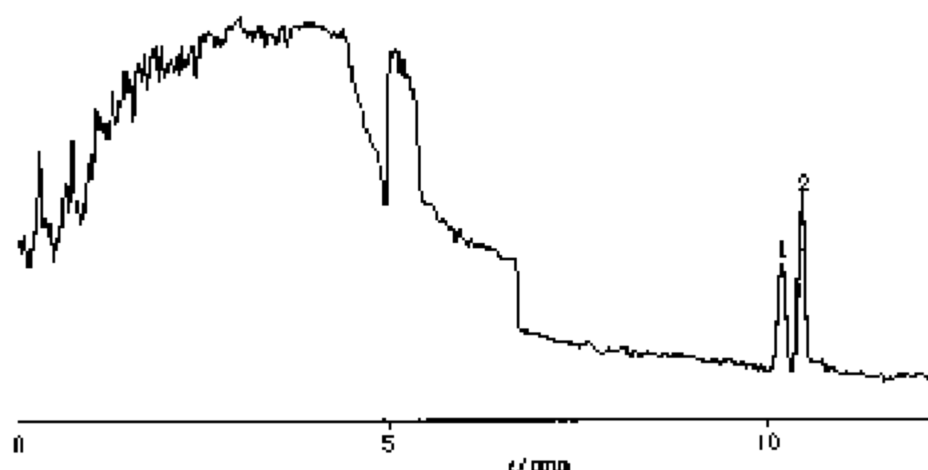


图 15-177 硅胶（SI）柱评价色谱图（二）

色谱峰：1—苯；2—硫脲

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 45cm，内填 10μm SI

流动相：乙腈+4mmol·L⁻¹硼砂水溶液（体积比=90∶10）

进　样：2.5kV/2s

运行电压：15kV

检　测：UV（254nm）

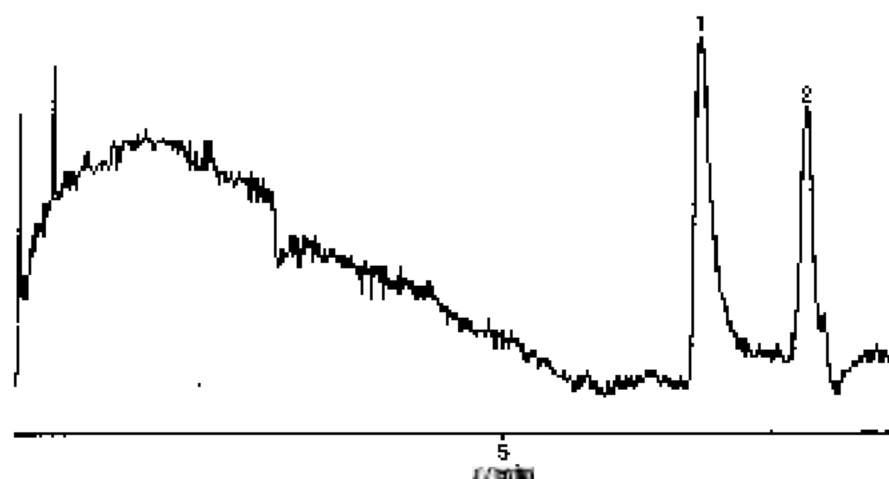


图 15-178 氧化锆（Zr-NPZ）柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 Zr-NPZ

流动相：乙腈+2mmol·L⁻¹MES（体积比=90∶10）

进　样：5kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

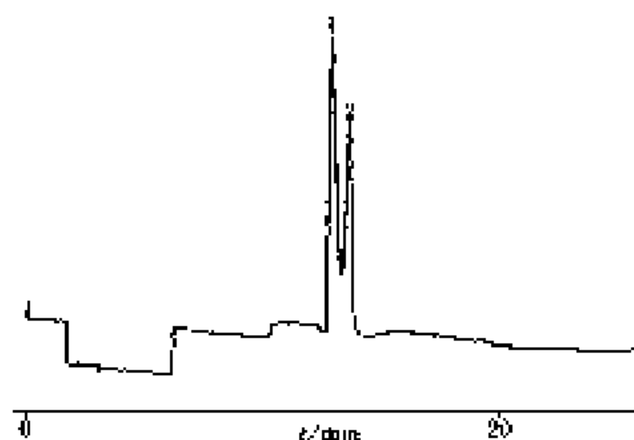


图 15-179　磷酸酯柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—萘

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 [illegible]μm 磷酸酯

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝70：30）

进　样：10kV/1s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

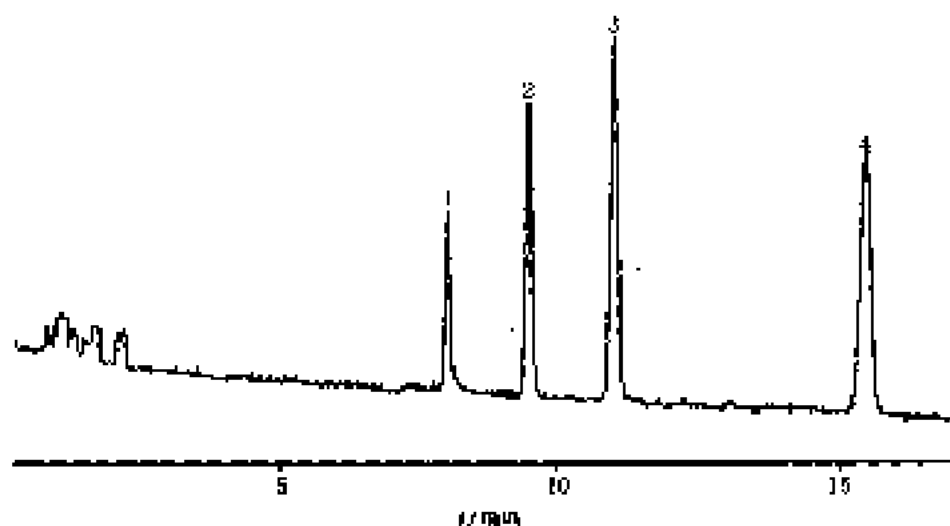


图 15-180　PFP 柱评价色谱图

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲醇；3—苯甲醛；4—萘

色谱柱：内径 75μm，外径 360μm，填料有效长度 21cm，内填 [illegible]μm PFP

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝80：20）

进　样：5kV/[illegible]s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

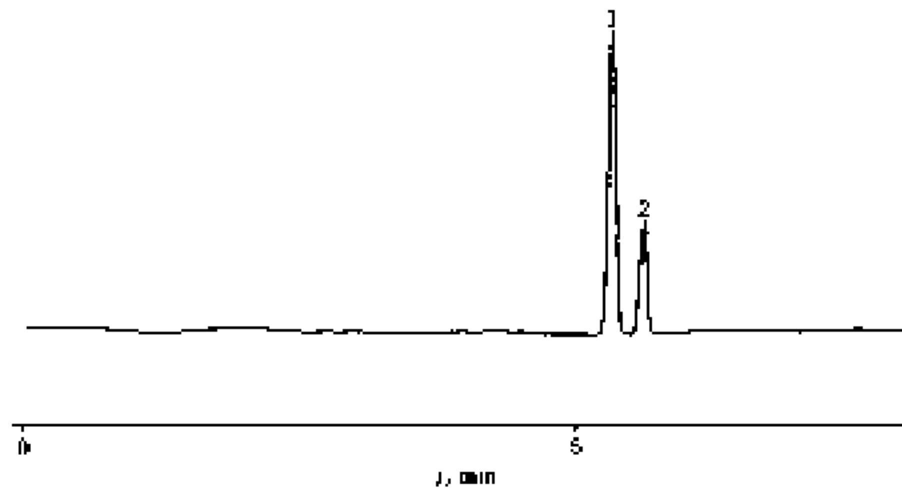


图 15-181　高聚合（POLYCAT）柱评价色谱图

色谱峰：1—苯；2—甲苯

色谱柱：内径 100μm，外径 360μm，填料有效长度 25cm，内填 3μm POLYCAT

流动相：乙腈＋4mmol·L^{-1}硼砂水溶液（体积比＝90：10）

进　样：10kV/2s

运行电压：10kV

检　测：UV（254nm）

二、毛细管电色谱应用谱图

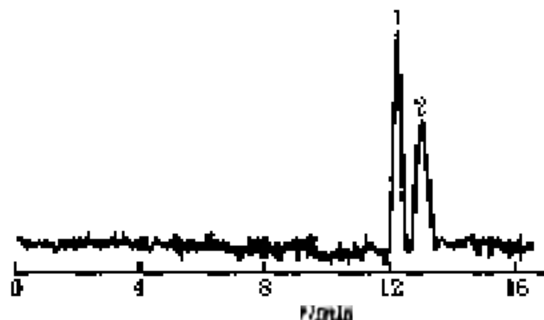


图 15-182　苯丙氨酸对映体的分子烙印电色谱分离谱图[157]

色谱峰：1—D-Phe；2—L-Phe

毛细管柱：有效柱长 20 cm，总柱长 27 cm；内径 75 μm，外径 375 μm；以 L-苯丙氨酸为烙印分子的连续床层柱

缓冲溶液：MeCN＋HAc＋H_2O（体积比＝90：5：5）

进　样：300 V·cm^{-1}，5 s

电　压：350 V·cm^{-1}

检测器：紫外（214 nm）

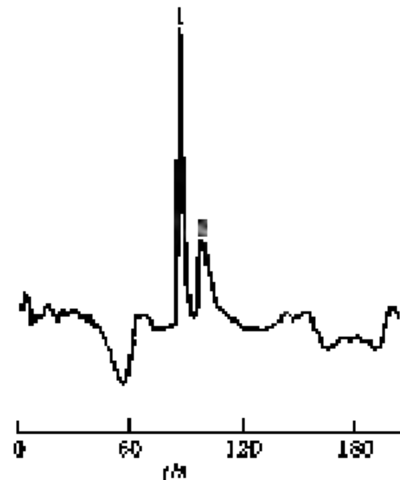


图 15-183　心得安对映体的分子烙印电色谱柱分离谱图[158]

色谱峰：1—S-心得安；2—R-心得安

毛细管柱：有效柱长 26.5 cm，总柱长 35 cm；内径 75 μm；以 R-心得安为烙印分子的连续床层柱

缓冲溶液：乙腈－4 mmol·L^{-1}乙酸盐缓冲液（体积比＝80：20）

进　样：5 kV，3 s 压力，0.7 MPa

温　度：60℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（214 nm）

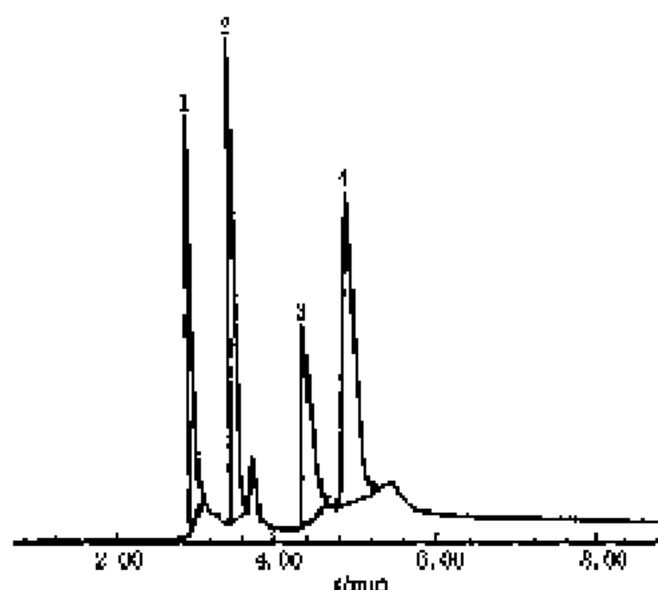


图 15-184 蛋白质的开管毛细管电色谱分离谱图[illegible]

色谱峰：1—细胞色素 C；2—溶菌酶；3—肌红蛋白；4—核糖核酸酶 A

毛细管柱：有效长度 25 cm，总长度 45 cm，内径 50 μm，外径 375 μm，内壁键合 7-辛烯-1，2-二醇

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹乙酸 pH4.41

进　样：5 kV，6 s

电　压：28 kV

检测器：紫外（211 nm）

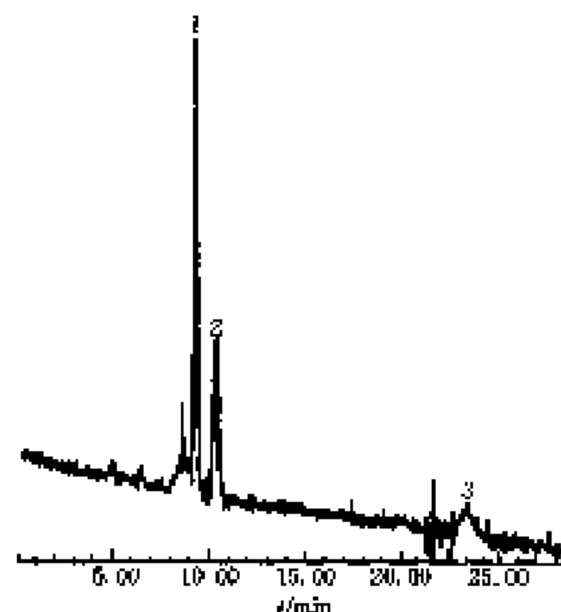


图 15-185 血管紧张肽的开管毛细管电色谱分离谱图[illegible]

色谱峰：1—血管紧张肽Ⅱ；2—血管紧张肽Ⅲ；3—血管紧张肽Ⅰ

毛细管柱：有效长度 25 cm，总长度 45 cm，内径 50 μm，外径 375 μm，内壁键合 C_{18}

缓冲溶液：30 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液，pH2.14

进　样：5 kV，6 s

电　压：30 kV

检测器：紫外（211 nm）

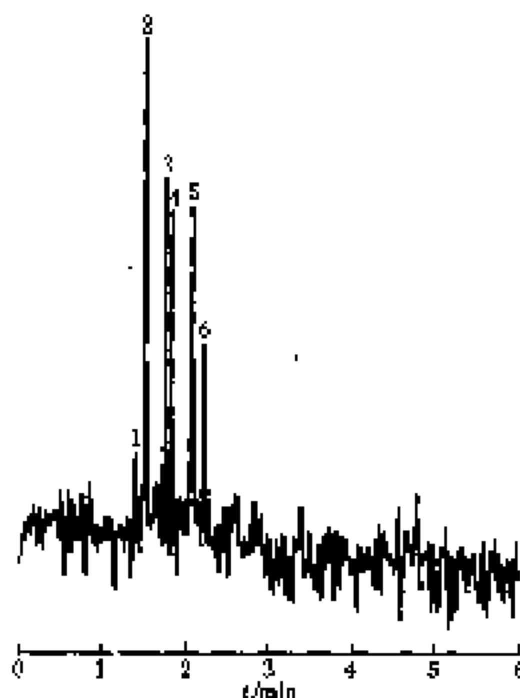


图 15-186 肽混合物的开管毛细管电色谱分离谱图[illegible]

色谱峰：1—亮氨酸脑啡肽；2—血管舒缓激肽；3—血管紧张肽；4—蛋氨酸脑啡肽-精氨酸-苯丙氨酸；5—物质 P；6—脑神经紧张肽

毛细管柱：有效长度 25 cm，总长度 30 cm，内径 9 μm，APS 修饰柱

缓冲溶液：5 mmol·L⁻¹乙酸铵

进　样：−2 kV，3 s

电　压：−12 kV

检测器：紫外（214 nm）

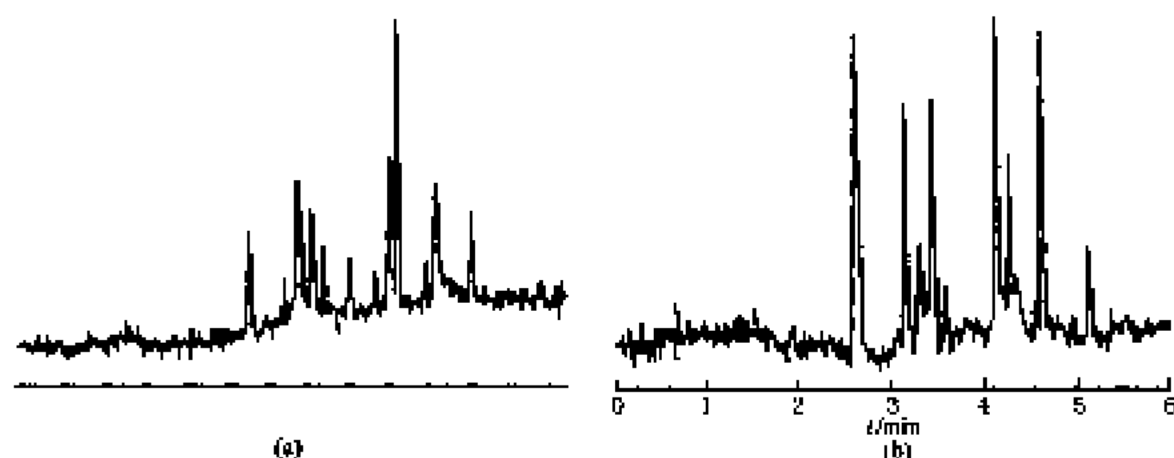


图 15-187 马心脏肌肉球蛋白降解产物的开管毛细管电色谱柱分离谱图

(a) 紫外检测谱图；(b) 质谱检测总离子流谱图

色谱峰：肌球蛋白降解产物

毛细管柱：有效柱长 35 cm，总柱长 40 cm，内径 9 μm，外径 150 μm，APS 涂层柱

缓冲溶液：0～35%乙腈 6min 内形成梯度洗脱

进　样：－2 kV，5 s

电　压：－14 kV　　　　　检测器：紫外（214 nm），质谱检测器

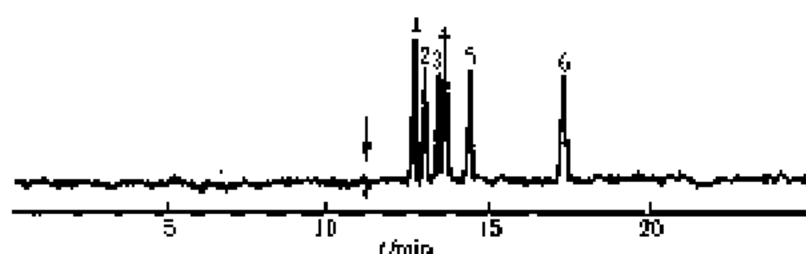


图 15-188 氯化物的开管毛细管电色谱分离谱图

色谱峰：1—氯化苯；2—1,4-二氯化苯；3—1,3-二氯化苯；4—1,2-二氯化苯；5—1,2,4-三氯化苯；6—1,2,4,5-四氯化苯

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 60 cm，内径 25 μm，涂层 TEOS—F_3-TEOS（1＋2）开管电色谱柱

缓冲溶液：甲醇＋10 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH7）（体积比＝50∶50）

进　样：6 kV，4 s

电　压：20 kV　　　　　检测器：紫外（214 nm）



色谱峰：1—Serilene 黄棕 K-LS；2—Serilene 蓝 2RL；3—Serilene 黄褐 G-LS；4—Serilene 黑红 PL

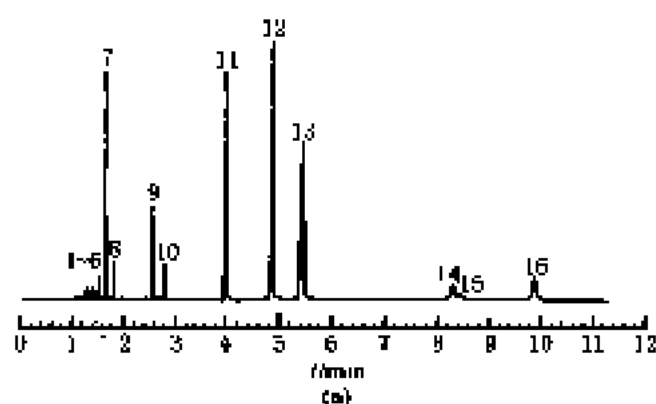
毛细管柱：有效长度 25 cm，总长度 100 cm，内径 75 μm，外径 375 μm，填充 3 μm Hypersil ODS 固定相

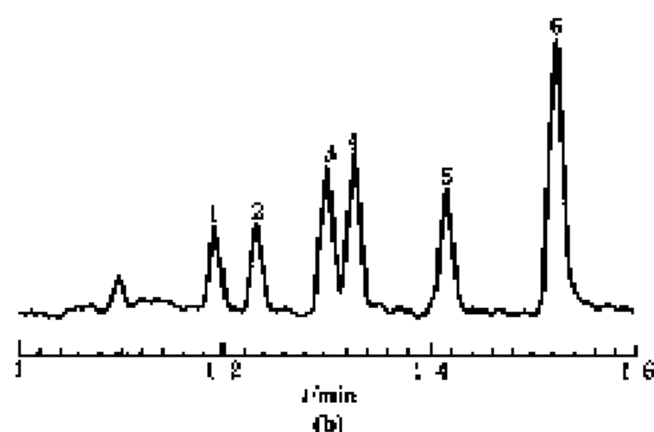
缓冲溶液：80%乙腈，20% 4 mmol·L^{-1}醋酸盐缓冲液，pH8.0

电　压：30 kV

检测器：紫外（210 nm）柱上检测

图 15-189 Serilene 染料的电色谱分离谱图





色谱峰：1—萘；2—苊；3—二氢苊；4—芴；5—菲；6—蒽；7—荧蒽；8—芘；9—苯并[a]蒽；10—䓛；11—苯并[b]荧蒽；12—苯并[k]荧蒽；13—苯并[a]芘；14—二苯并[a,h]蒽；15—苯并[ghi]苝；16—茚并芘

毛细管柱：有效长度 20 cm，总长度 30 cm，内径 100 μm，填充 1.5 μm 无孔 ODS

缓冲溶液：乙腈-2 mmol·L⁻¹ Tris（体积比=65∶35）

电　压：20 kV

检测器：激光诱导荧光

图 15-190　16 种多环芳烃的毛细管电色谱分离谱图

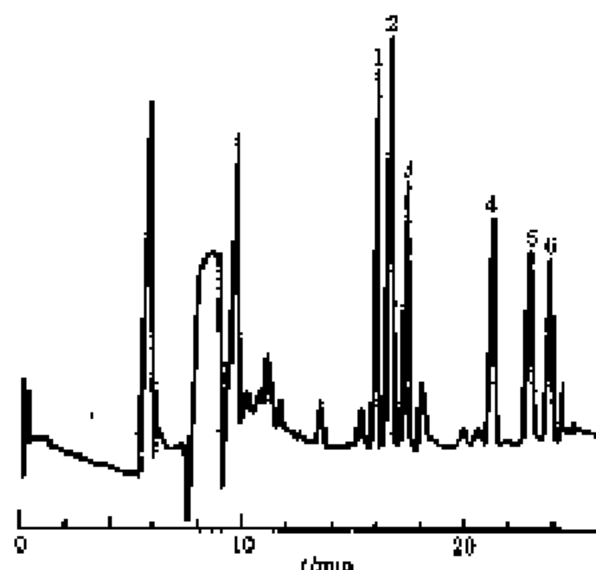


图 15-191　血浆提取物中黄体酮及其代谢产物的毛细管电色谱分离谱图

色谱峰：1—睾酮；2—雄烯二酮；3—17-α-羟基黄体酮；4—20α-羟基黄体酮；5—炔诺酮；6—黄体酮

毛细管柱：有效柱长 20 cm，总柱长 35 cm，内径 100 μm，外径 365 μm，填充 3 μm Hypersil ODS

缓冲溶液：乙腈+甲醇+20 mmol·L⁻¹Tris 缓冲液（pH8，体积比=37.5∶37.5∶25）

进　样：25 kV，60 s

电　压：15 kV

检测器：紫外（240 nm）

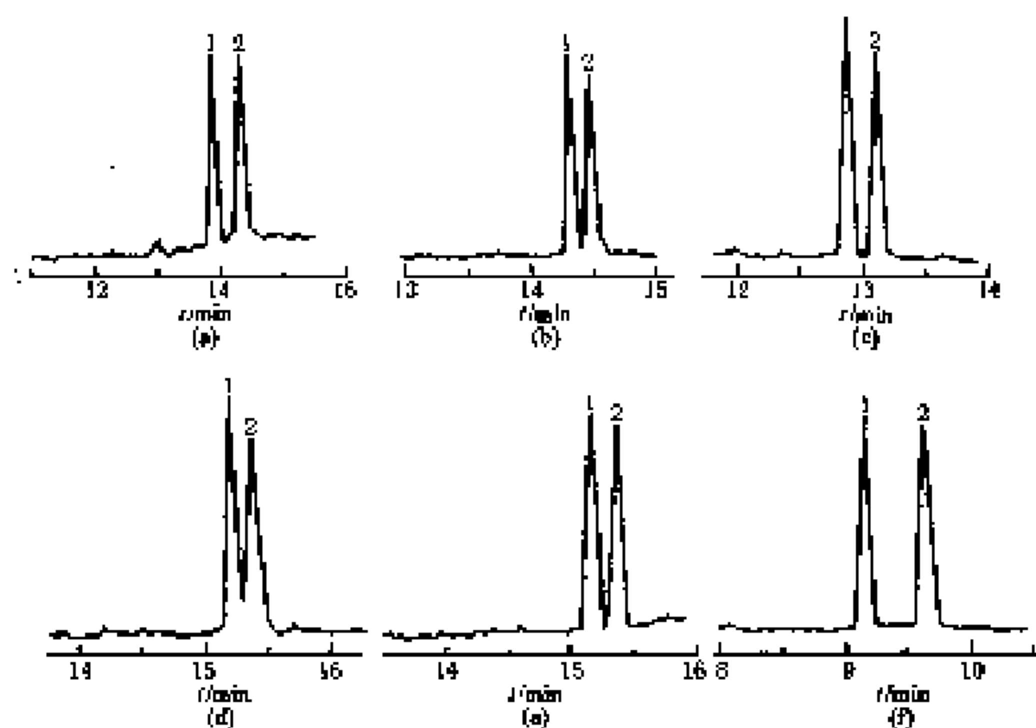


图 15-192　氨基酸对映体的CD包结电泳分离谱图[134]

(a) Leu；(b) Iso-Leu；(c) Nor-Leu；(d) Nor-Val；(e) Thr；(f) Lys

色谱峰：1—D型；2—L型

毛细管柱：36 cm×50 μm，有效柱长 40 cm

缓冲溶液：(a)、(b)、(c) 25 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4-H_3PO_4，pH7，30 g·L^{-1} SBE-β-CD；(d)、(e) 25 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4-H_3PO_4，pH6，30 g·L^{-1} SBE-β-CD；(f) 25 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4-H_3PO_4，pH8，20 g·L^{-1} SBE-β-CD

运行电压：18 kV

温　度：25℃

检　测：UV (210 nm)

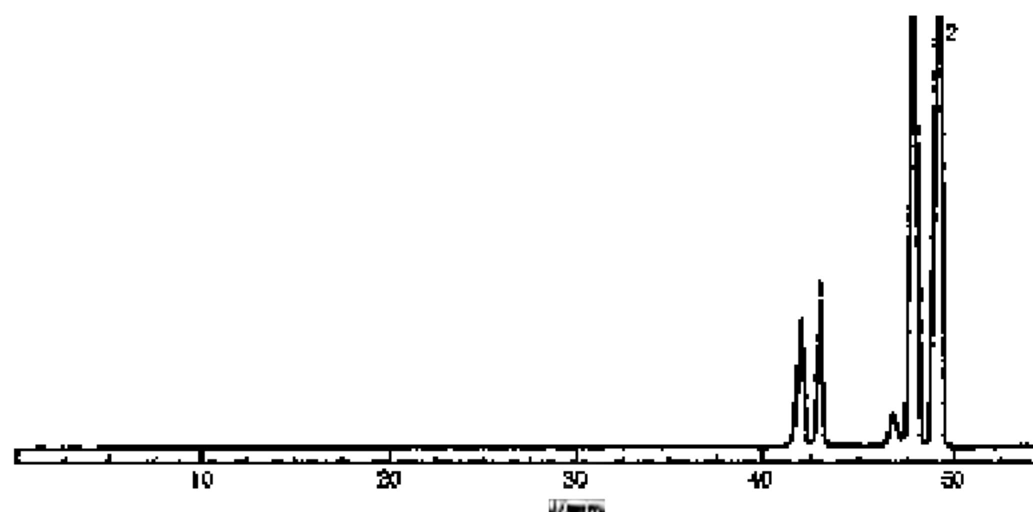


图 15-193　头孢菌酸呋肟同分异构体的毛细管电色谱分离谱图[135]

色谱峰：1—Z型头孢菌酸呋肟；2—E型头孢菌酸呋肟

毛细管柱：柱长 40 cm，内径 50 μm；填充 3 μm ODS 1PC12

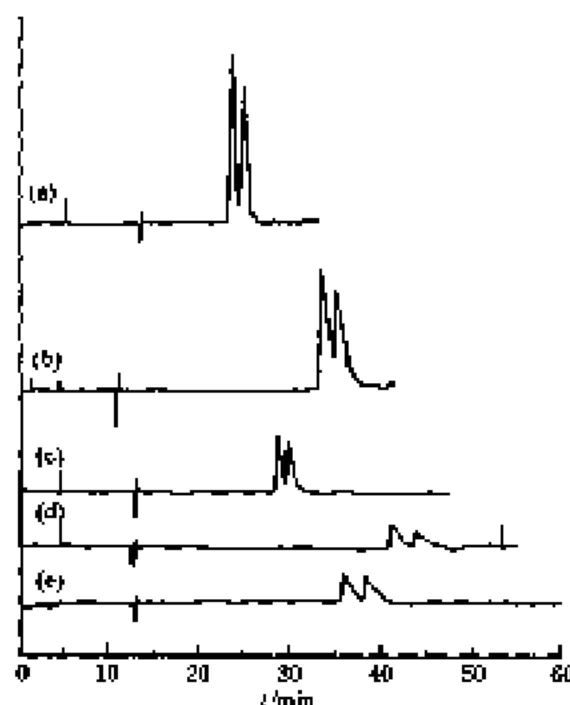
缓冲溶液：乙腈＋10 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4(pH8.0)(体积比＝50：50)

进　样：20 kV，0.2 min

温　度：30℃

电　压：20 kV

检测器：紫外 (276 nm)



色谱峰 (a) 环己烯巴比妥；(b) 安息香；(c) DNP-dl-Met；(d) DNP-dl-乙基甘氨酸；(e) DNP-dl-Leu

毛细管柱：有效柱长17 cm，总柱长42 cm，内径50 μm，外径365 μm，填充5 μm β-CD

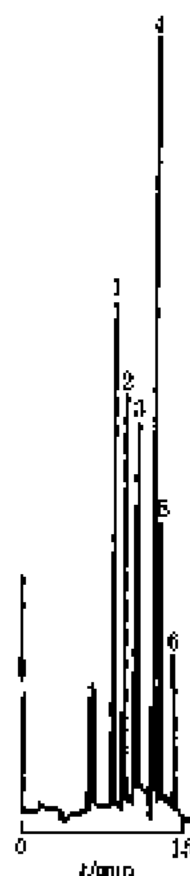
缓冲溶液：50 mmol·L^{-1} TEAA，25%甲醇，pH4.71

进　样 5 kV，1 s

温　度，40℃

检测器：紫外（200 nm）

图15-194　5种药物对映体的毛细管电色谱分离谱图[illegible]



色谱峰 1—异羟洋地黄毒苷元；2—羟基洋地黄毒苷元；3—羟基华蟾酥精毒；4—洋地黄毒苷元；5—华蟾酥毒基；6—蟾蜍灵

毛细管柱：有效柱长25 cm，总柱长50 cm，内径50 μm，外径375 μm，填充3 μm Spherisorb ODS-1固定相

缓冲溶液：乙腈+4 mmol·L^{-1}硼酸盐缓冲液（体积比=70∶30）pH8

进　样：5 kV，10 s

电　压：15 kV

检测器：紫外（214 nm）

图15-195　甾类化合物的毛细管电色谱分离谱图[illegible]

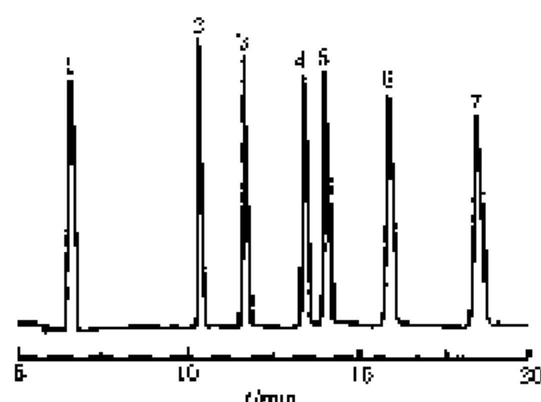


图 15-196　苯甲酸盐的毛细管电色谱分离谱图[344]

色谱峰：1—硫脲；2—苯甲酸盐；3—苯乙酸盐；4—苯丙酸盐；5—苄氧苯甲酸盐；6—苯丁酸盐；7—苯异戊酸盐

毛细管柱：有效长度 34.5 cm，总长度 39.5 cm，内径 180 μm，外径 337 μm，填充 Nucleosil 100-3-C_{18}

进　样：2 kV，5 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（230 nm）

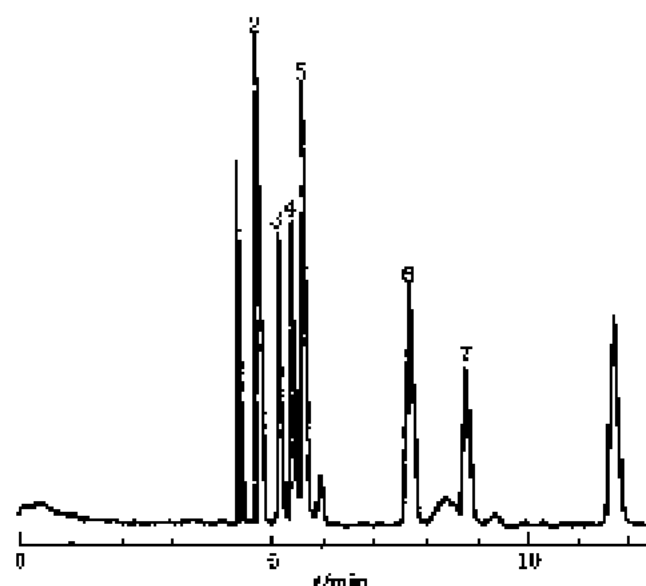


图 15-197　苯酚类化合物的毛细管电色谱分离谱图[345]

色谱峰：1—苯酚；2—3,5-二甲基苯酚；3—2,3,5-三甲基苯酚；4—对叔丁基苯酚；5—4-仲丁基苯酚；6—3,5-二叔丁基苯酚；7—4-叔戊基苯酚

毛细管柱：有效长度 25 cm，总长度 51 cm，内径 200 μm，填充 5 μm Hypersil ODS 固定相

缓冲溶液：4 mmol·L^{-1}硼酸钠缓冲液，80%乙腈，pH8.8

电　压：20 kV

检测器：紫外检测

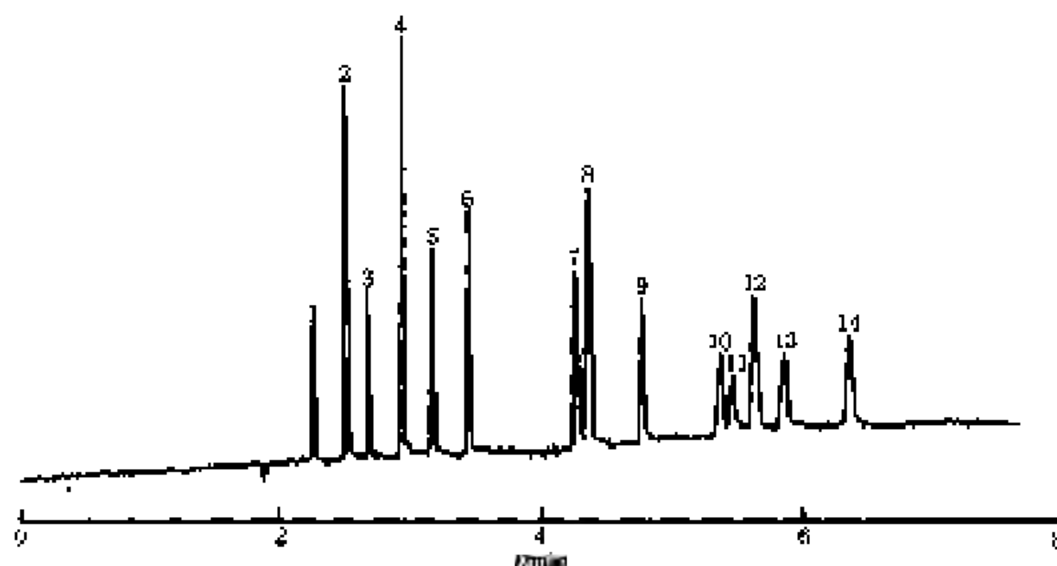


图 15-198　火炸药的毛细管电色谱分离谱图[346]

色谱峰：1—HMX；2—TNB；3—RDX；4—DNB；5—NB；6—TNT；7—tetryl；8—2,4-DNT；9—2,6-DNT；10—2-NT；11—4-NT；12—2-AmDNT；13—3-NT；14—AmDNT

毛细管柱：有效长度 21 cm，总长度 34 cm，内径 75 μm，外径 365 μm，填充 1.5 μm 无孔 ODS

缓冲溶液：甲醇+10 mmol·L^{-1}MES（体积比=20∶80），5 mmol·L^{-1}SDS

进　样：8 kV，2 s

电　压：12 kV

检测器：紫外（254 nm）

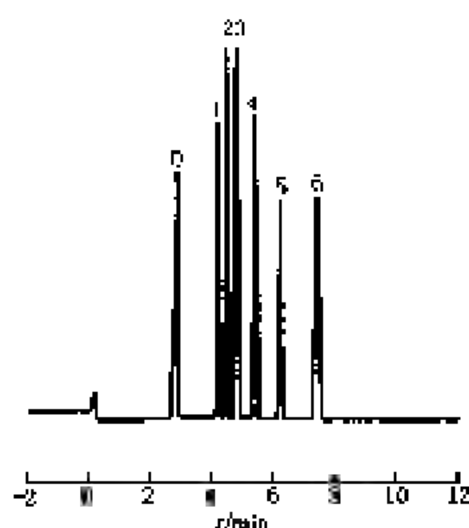


图 15-199　烷基苯的毛细管电色谱分离谱图（一）[143]

色谱峰：1—苯；2—甲苯；3—乙苯；4—丙苯；5—丁苯；6—戊苯

毛细管柱：有效柱长 20.5 cm，总柱长 27 cm，内径 100 μm，填充 C_{18}-键合相键合硅胶

缓冲溶液：1.25 mmol·L⁻¹磷酸钠＋乙腈（体积比＝75∶25，pH8.0）

进　样：1 kV，1 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（254 nm）

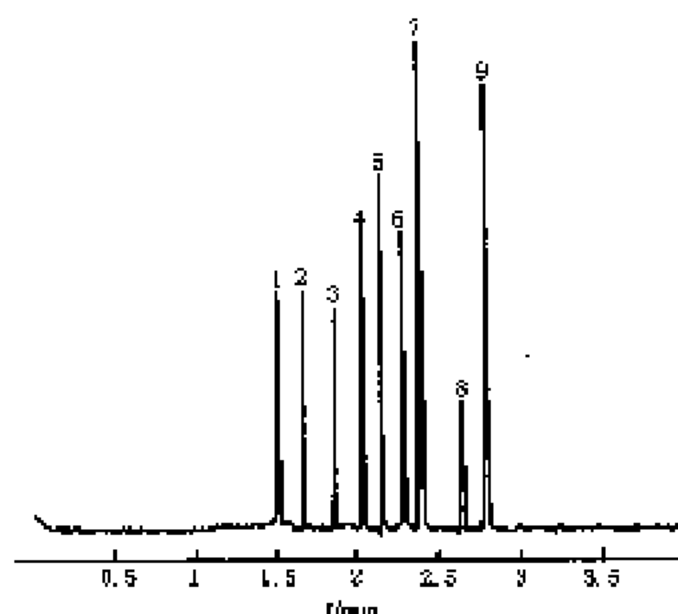


图 15-200　烷基苯的毛细管电色谱分离谱图（二）[144]

色谱峰：1—丙酮；2—苯；3—甲苯；4—乙苯；5—丙苯；6—丁苯；7—萘酚；8—戊苯；9—己苯

毛细管柱：有效柱长 25.8 cm，总柱长 32 cm，内径 100 μm，填充 1.5 μm 无孔 ODS

缓冲溶液：乙腈—水（体积比＝3∶8），5 mmol·L⁻¹ SDS，1.6 mmol·L⁻¹硼酸钠，pH9.25

温　度：25℃

电　压：20 kV

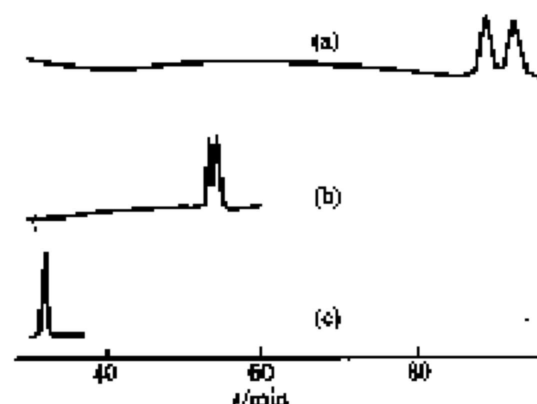


图 15-201　氯噻酮对映体的毛细管电色谱分离谱图（一）[145]

色谱峰：氯噻酮对映体

毛细管柱：有效柱长 26.2 cm，总柱长 50 cm，内径 50 μm，填充 3 μm ODS

缓冲溶液：乙腈＋Na_2HPO_4缓冲液（pH6.5，用浓H_3PO_4调节），它们体积比为 (a) 15∶85，(b) 20∶80，(c) 25∶75，10 mmol·L⁻¹ HP

进　样：15 kV 5 s

电　压：15 kV

检测器：紫外（220 nm）

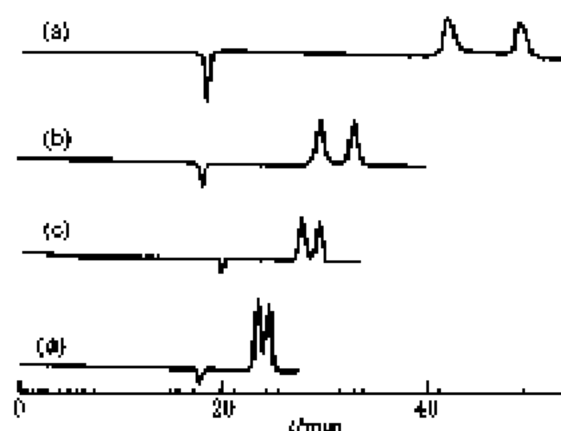


图 15-202　氯噻酮对映体的毛细管电色谱分离谱图（二）[115]

色谱峰：氯噻酮对映体

毛细管柱：有效长度 37 cm，总长度 58 cm，内径 50 μm，填充 5 μm HPβ-CD 键合硅胶固定相

缓冲溶液：乙腈＋5 mmol・L^{-1} Na_2HPO_4 缓冲液（pH6.5，用 H_3PO_4 调节），它们体积比为（a）15：85，（b）20：80，（c）25：75，（d）30：70

进　样：15 kV，5 s

电　压：15 kV

检测器：紫外（220 nm）

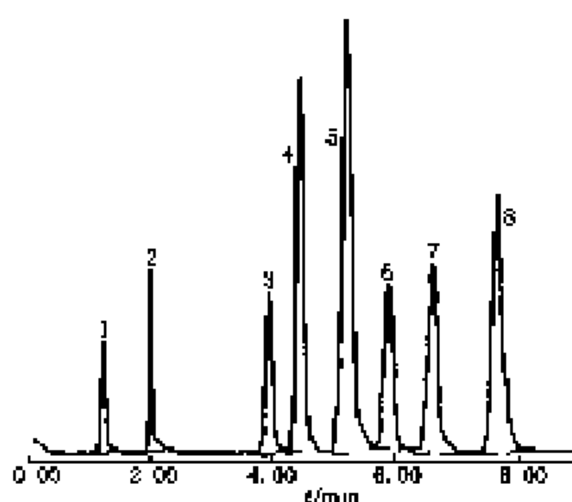


图 15-203　酸性药物的毛细管电色谱分离谱图[116]

色谱峰：1—色甘酸；2—左甲状腺素盐；3—乌拉莫斯汀；4—阿斯匹林；5—水杨酸；6—华法令；7—苯丙酮香豆素；8—[illegible]

毛细管柱：有效长度 7 cm，总长度 27 cm，内径 50 μm，固定相 3 μm SCX/C_{18}

缓冲溶液：乙腈＋甲醇＋20 mmol・L^{-1} 磷酸盐缓冲液（pH1.5，体积比＝50：20：30）

进　样：3 kV，2 s

电　压：7 kV

检测器：UV（200 nm）

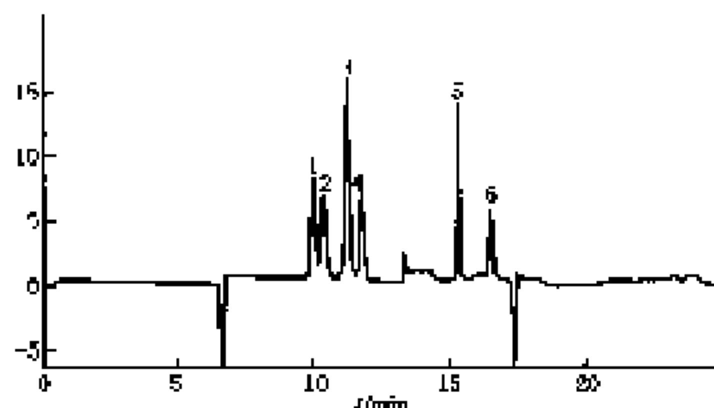


图 15-204　利尿剂的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[117]

色谱峰：1—氢氯噻嗪；2—双氢氯噻嗪；3—氯噻酮；4—双氢氯噻嗪；5—苄氟噻嗪；6—丁苯氧酸

毛细管柱：柱长 23 cm，内径 50 μm，填充 3 μm Hypersil ODS

缓冲溶液：0～6.5 min 乙腈＋磷酸盐缓冲液（50 mmol・L^{-1} pH2.5）＋水（体积比＝40：20：40）

6.5～17.25 min 乙腈＋磷酸盐缓冲液（50 mmol・L^{-1} pH2.5）＋水（体积比＝60：20：20）

17.25～25 min 乙腈＋磷酸盐缓冲液（50 mmol・L^{-1} pH2.5）＋水（体积比＝40：20：40）

进　样：5 kV 15 s　　　　电　压：30 kV

温　度：15℃　　　　压　力：8×10^5 Pa

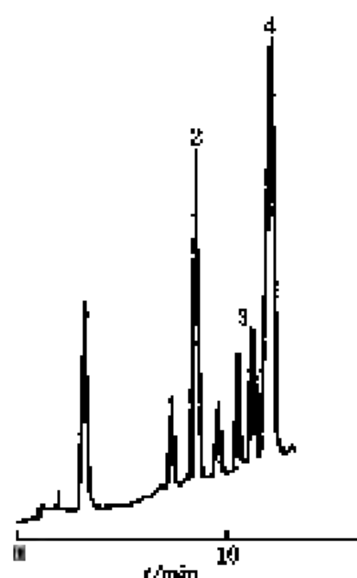


图 15-205　寡核苷酸的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[140]

色谱峰：1—dC_{2}；2—dC_{4}；3—dC_{10}；4—dC_{11}

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 50 cm，内径 50 μm，外径 360 μm，填充 5 μm Gromsil ODS，固定相

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹三乙基乙酸铵，pH6，0%~30%乙腈 30 min 内梯度

进　样：20 MPa，15 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（260 nm）

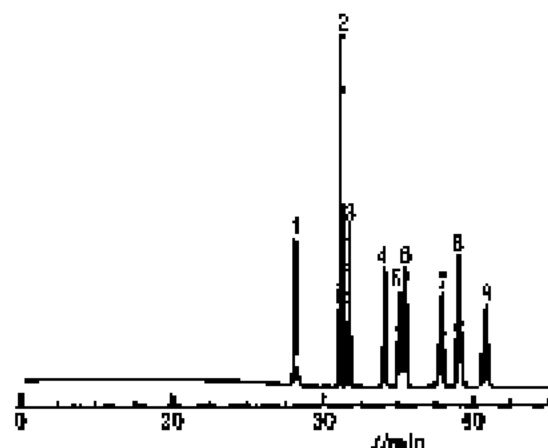


图 15-206　10 种甾类化合物的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[140]

色谱峰：1—氟羟强的松龙；2—氢化可的松琥珀酸的松龙；3—可的松；4—甲基强的松龙；5—倍他米松；6—地塞米松；7—肾上腺甾酮；8—氟考龙；9—去炎松-A

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 42 cm，内径 50 μm，外径 375 μm，填充 3 μm Hypersil ODS 固定相

缓冲溶液：起始溶液 5 mmol·L⁻¹乙酸铵溶于乙腈＋水（体积比＝17∶83）保持 3 min，16 min 内升至 38%乙腈保持

进　样：HPLC 进样体积 10 μl

电　压：40 kV

检测器：紫外（254 nm）

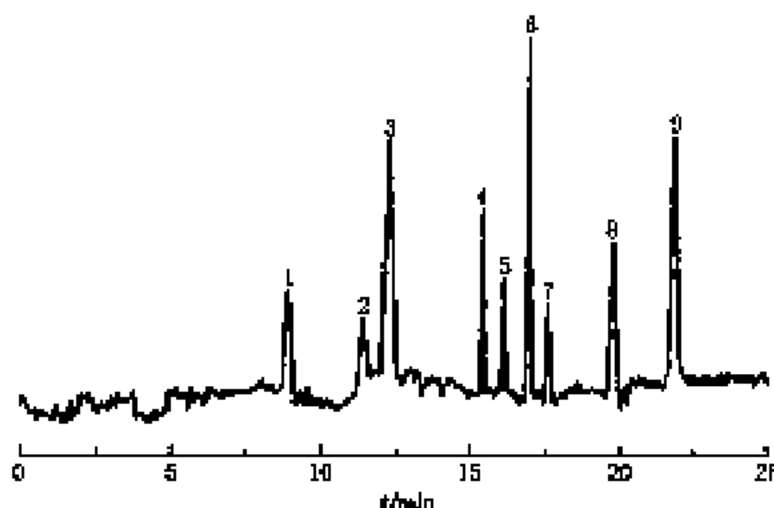


图 15-207　DNPH 衍生化醛酮的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[140]

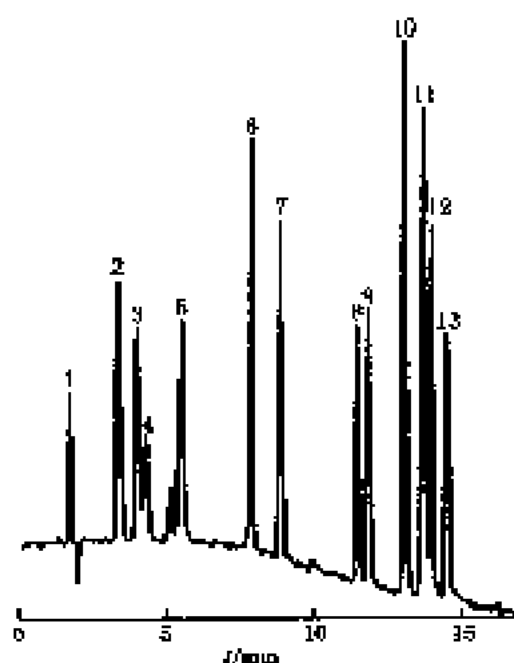
色谱峰：1—乙醛；2—丙酮；3—丙醛；4—苯甲醛；5—丁醛；6—邻甲基苯甲醛；7—戊醛；8—2,5-二甲基苯甲醛；9—庚醛

毛细管柱：有效柱长 15.8 cm，总柱长 43.5 cm，内径 75 μm，外径 360 μm；填充 3 μm Spherisorb ODS

缓冲溶液：4 mmol·L⁻¹Tris 0~12.83 min 乙腈＋水（体积比＝60∶40），12.83 min~乙腈＋水（体积比＝80∶20）

进　样：10 kV，3 s　　　　电　压：20 kV

温　度：室温　　　　检测器：紫外（360 nm）



色谱峰：1—甲酰胺；2—Asn；3—Gln；4—Thr；5—Gly；6—Ala；7—Tyr；8—Val；9—Pro；10—Trp；11—Phe；12—Ile；13—Leu

毛细管柱：有效柱长 12.7 cm，总柱长 20.7 cm，内径 50 μm，外径 375 μm，填充 3.5 μm Zorbax ODS

缓冲溶液：起始溶液（A） 5 mmol·L^{-1}磷酸盐（pH7.55）+30%乙腈；
梯度溶液（B） 5 mmol·L^{-1}磷酸盐 pH7.55+60%乙腈 A 的流速 0.1ml·min^{-1}；梯度：20 min 内 0~100%B

进　样：1 kV，0.5 s

温　度：25℃

电　压：10 kV

检测器：紫外（210 nm）

图 15-208　PTH 衍生化氨基酸的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[illegible]

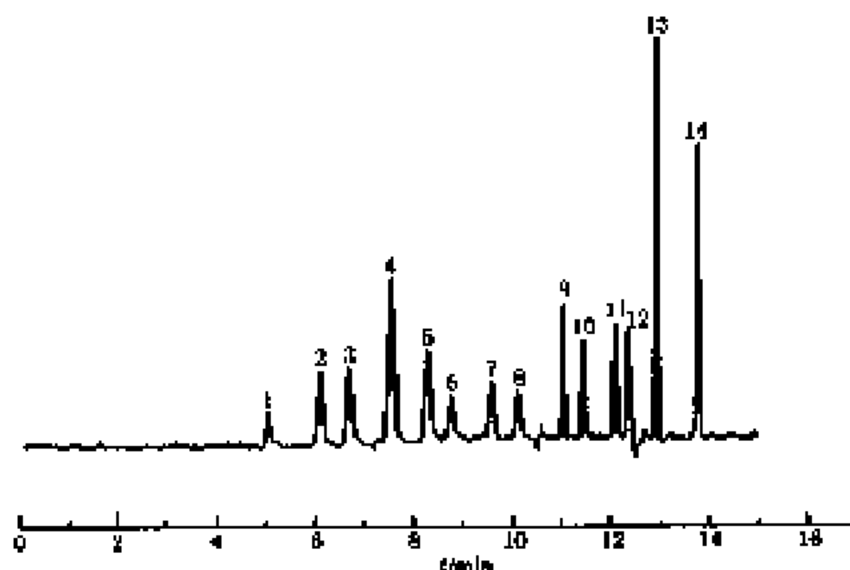


图 15-209　芳香族化合物的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[illegible]

色谱峰：1—硫脲，2—苯胺，3—苯乙醇，4—苯乙腈，5—硝基苯，6—苯丙酮，7—苯，8—苯甲酸乙酯，9—氯苯，10—溴苯，11—乙苯，12—对二甲苯，13—正丙苯，14—1,2,4,5-四甲基苯

毛细管柱：有效长度 20 cm，总长度 27 cm，内径 75 μm，外径 375 μm，填充 3 μm Spherisorb-ODS$_1$ 固定相

缓冲溶液：4 mmol·L^{-1}Tris，0~7.0 min 甲醇+水（体积比＝80∶20），(7~10.3) min 乙腈+水（体积比＝80∶20）；10.3 min 乙腈+水（体积比＝90∶10）

进　样：1 kV，1 s

温　度：20℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（200 nm）

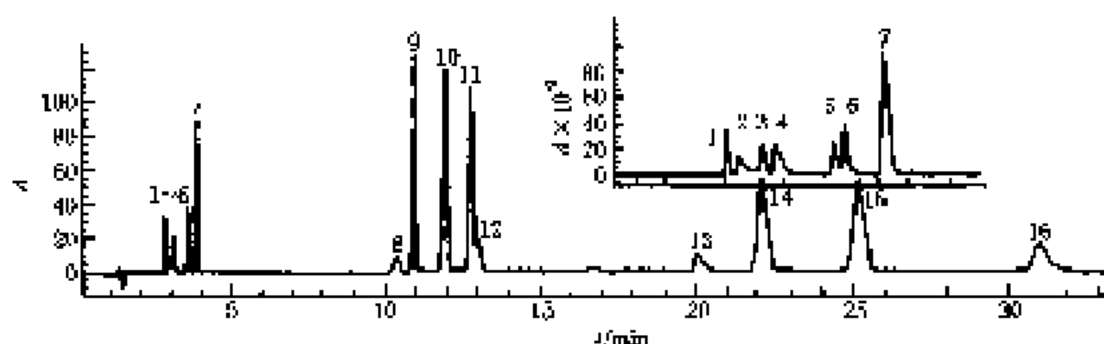


图 15-210 16种药物的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[152]

色谱峰 1—苯齐巴林；2—去氧麻黄碱；3—普鲁卡因；4—可卡因；5—海洛因；6—奎宁；7—诺司卡品；8—咖啡因；9—苯巴比妥；10—安定；11—甲基喹酮；12—环己乙酸睾酮；13—大麻酚；14—丙酸睾酮；15—Δ^9-四氢大麻酚；16—Δ^9-四氢大麻酚酸

毛细管柱：有效柱长 25 cm，总柱长 34 cm，内径 100 μm，外径 350 μm，填充 3 μm Hypersil C_8 固定相

缓冲溶液 0~1.0 min 乙腈+25 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲溶液 (60：40) 2 μl·ml⁻¹己胺 1 min 后 乙腈+25 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲溶液=75：25 2 μl·ml⁻¹己胺

进　样：5 kV，3 s

温　度：20℃

电　压：25 kV 气压 1×10^6 Pa

检测器：紫外 (210 nm)

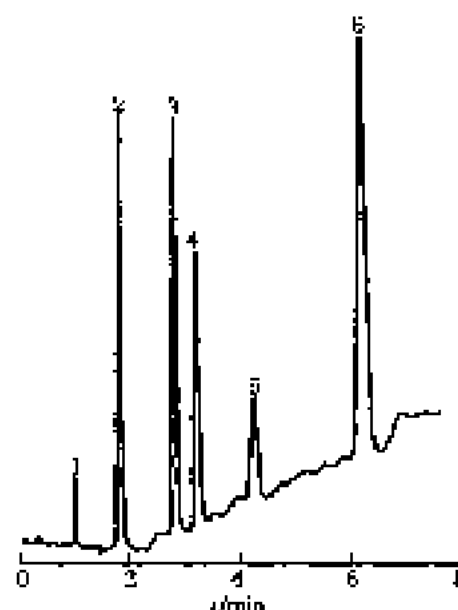


图 15-211 甾类激素的毛细管电色谱梯度洗脱分离谱图[319]

色谱峰：1—甲酰胺；2—皮质甾酮；3—睾丸酮；4—5-雄烯-3β，17β-二醇；5—1α-雄烷；6—3，20-孕二酮

毛细管柱：有效柱长 9.6 cm，总柱长 17.6 cm，内径 50 μm，外径 375 μm，填充 6 μm Zorbax ODS

缓冲溶液：起始溶液 (A)：10 mmol·L⁻¹硼酸盐 pH8.0 65%乙腈；
梯度溶液 (B)：10 mmol·L⁻¹硼酸盐，pH8.0 85%乙腈；A 溶液流速 0.1 ml·min⁻¹，梯度 0~100% B5 min，100%B 保持 3 min

进　样：1 kV，0.5 s

温　度：25℃

电　压：14 kV

检测器：紫外 (205 nm)

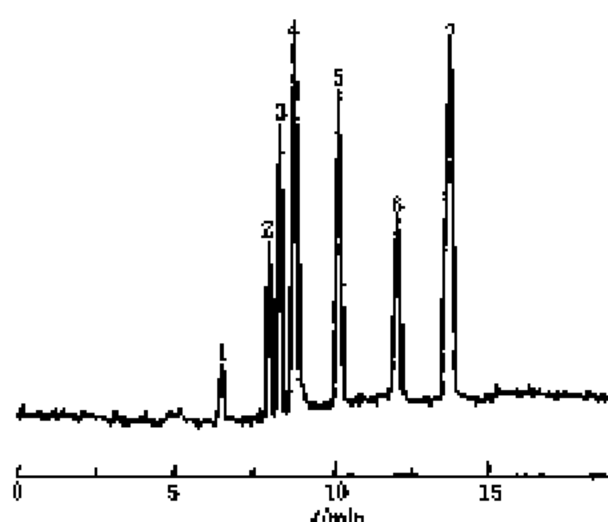


图 15-212 抗癫痫药物及代谢产物的加压电色谱分离谱图[119]

色谱峰：1—甲醇；2—乙琥胺；3—扑痫酮；4—卡马西平 10，11-二醇；5—卡马西平 10，11-环氧；6—苯妥英；7—卡马西平

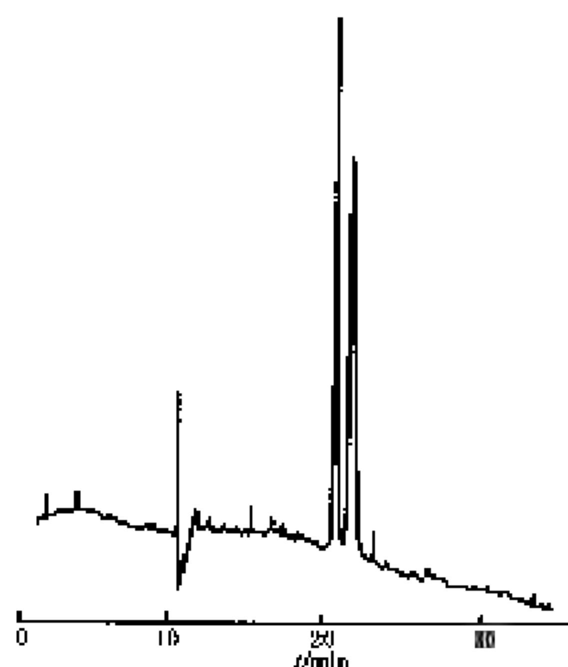
毛细管柱：有效柱长 10 cm，总柱长 26 cm，内径 100 μm，填充 3 μm Spherisorb ODS-1

缓冲溶液：甲醇+4 mmol 磷酸盐缓冲液 (pH8.5) (体积比=60：40)

进　样：1.7 MPa

电　压：−12 kV

检测器：紫外



色谱峰：布洛芬对映体

毛细管柱：有效长度 80 cm，总长度 97 cm，内径 50 μm；Chemsil-dex β-CD 键合柱

缓冲溶液：20 mmol・L⁻¹磷酸盐缓冲液 pH7.0

进　样：重力进样，5 s

电　压：30 kV

检测器：紫外（220 nm）

图 15-213　布洛芬对映体的 CEC 谱图[illegible]

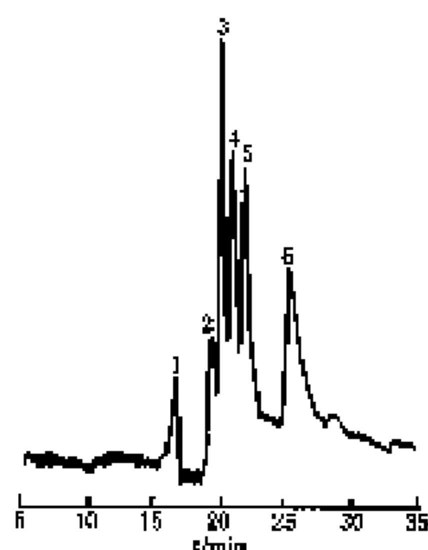


图 15-214　芳香族化合物的正相毛细管电色谱分离谱图[15]

色谱峰：1—甲苯；2—苯；3—苯酚；4—间苯二酚；5—2-氨基苯酚；6—1，2-二氨基苯

毛细管柱：有效长度 30.1 cm，总长度 34.1 cm，内径 150 μm，外径 360 μm，填充 5 μm Polygosil 100-10 硅胶

缓冲溶液：甲醇＋乙醇＋正己烷（体积比＝50∶7.5∶42.5）

进　样：5 kV，7 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（254 nm）

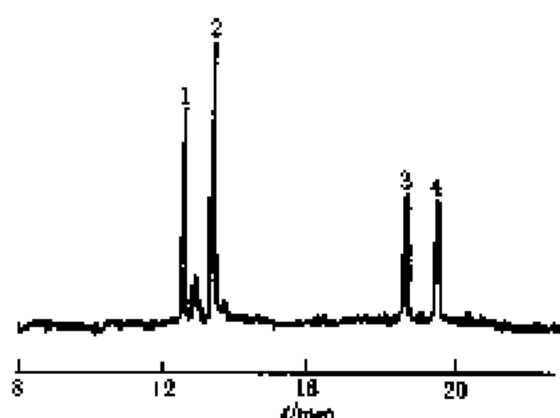


图 15-215　碱性蛋白的分离谱图[37]

色谱峰：1—细胞色素 C；2—溶菌酶；3—胰蛋白酶原；4—α-胰凝乳蛋白酶原 A

色谱柱：70 cm×50 μm，有效柱长 50 cm

缓冲溶液：4.5 mmol・L⁻¹的 Tris-CH_3COOH 缓冲溶液＋0.4％PVP

进　样：重力进样，10 cm×15 s

电　压：21 kV

检测器：UV（214 nm）

温　度：室温

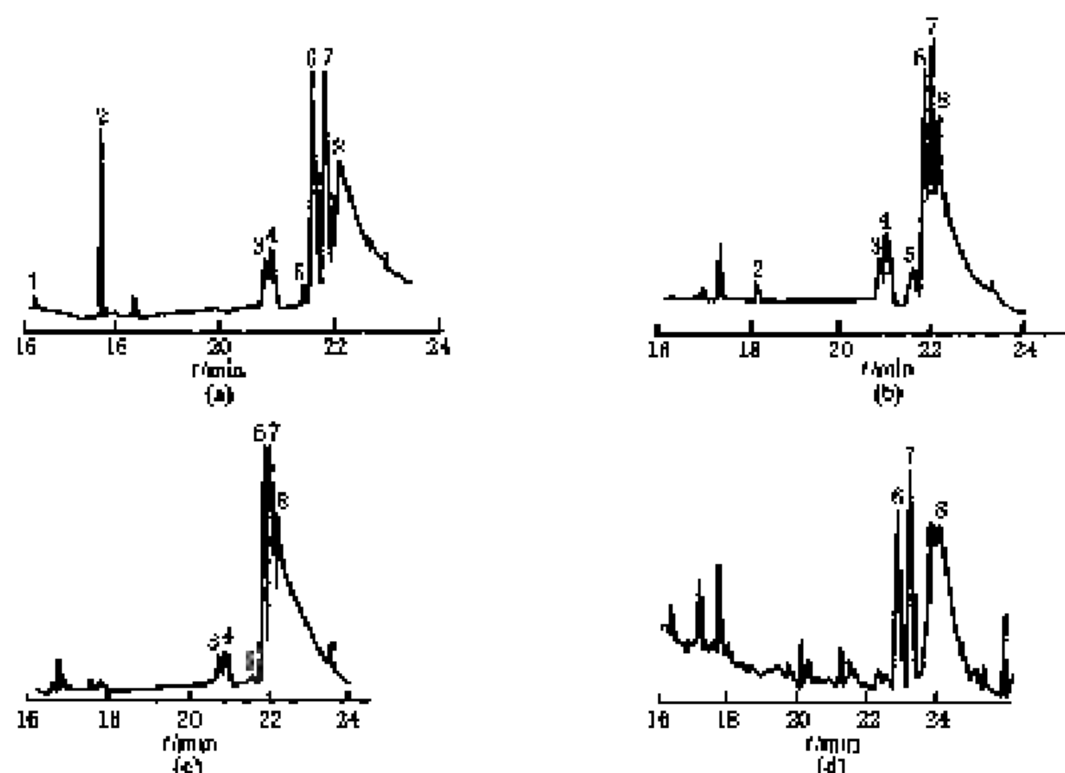


图15-216 DNA片段分离谱图[illegible]

色谱峰：1—125；2—564；3—2027；4—2322；5—4361；6—6557；7—9416；8—23130

毛细管：DB-1柱，内径100 μm，外径365 μm，涂层厚度0.1 μm，总长度60 cm，分离长度56 cm

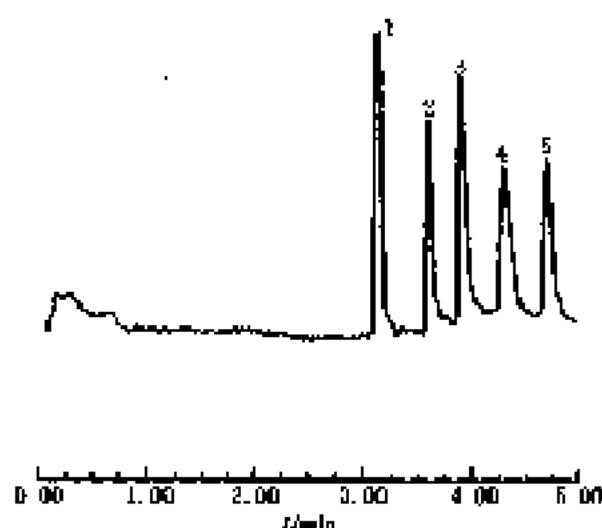
载体电解质溶液：1×TBE缓冲溶液；0.4%羟乙基纤维素，1 μmol·L⁻¹噻唑橙；DNA片段，λDNA-HindⅢ (1 g·L⁻¹)

进　样：40 s/6 kV

电　压：−12 kV 电流20 μA

检测器：氩离子激光器（激发波长为488 nm）；CCD检测器（发射波长为520 nm）

样品稀释倍数：(a)1，(b)2，(c)4，(d)8



色谱峰：1—未知峰；2—Tyr-Arg；3—Gly-Gly-Tyr-Arg；4—Tyr-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg；5—Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-NH_2

毛细管柱：有效柱长20.5 cm，总柱长35 cm，内径100 μm，外径360 μm，聚丙烯酰胺/聚乙二醇键合C_{18}固定相

缓冲溶液：47%乙腈溶于10 mmol·L⁻¹ Tris+15 mmol·L⁻¹硼酸缓冲液 pH8.2

进　样：0.5 kV，3 s

温　度：22℃

电　压：12.5 kV

检测器：紫外（270 nm）

图15-217 小肽的连续床层电色谱分离谱图[illegible]

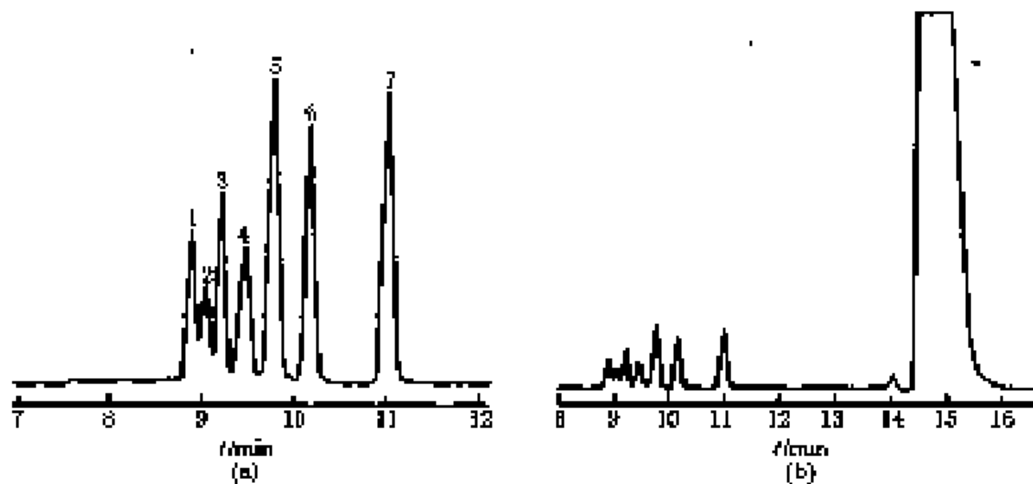


图 15-218 2-氨基苯酰胺衍生化寡糖的连续床层电色谱分离谱图[illegible]

色谱峰：1—Glc 7；2—Glc 6；3—Glc 5；4—Glc 4；5—Glc 3；6—Glc 2；7—Glc 1

毛细管柱：有效柱长 25 cm，总柱长 32 cm，内径 100 μm，外径 360 μm，聚丙烯酰胺/聚乙二醇键合 C_4 固定相

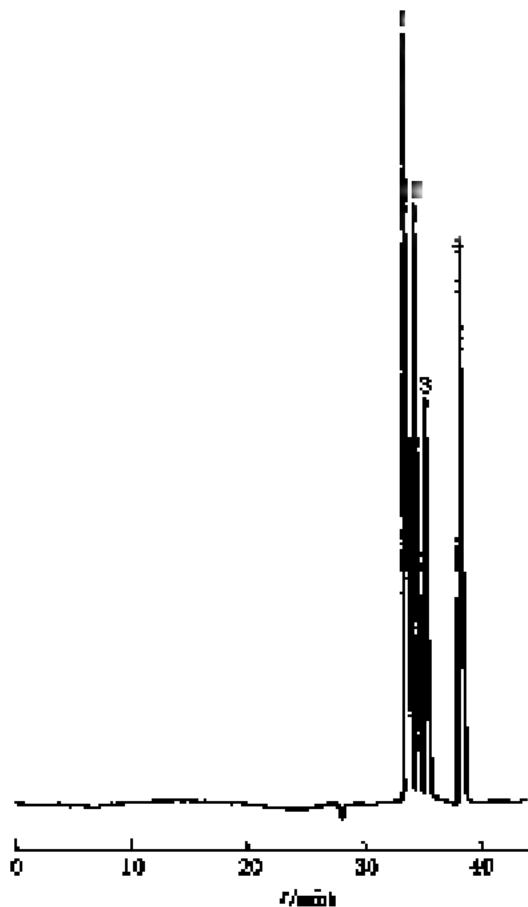
缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹ Tris-硼酸缓冲液 pH8.2

进　样：0.5 kV，1 s

温　度：22℃

电　压：12.5 kV

检测器：激光诱导荧光



色谱峰：1—氢化可的松；2—泼尼松龙；3—氢化可的松乙酸酯；4—睾酮

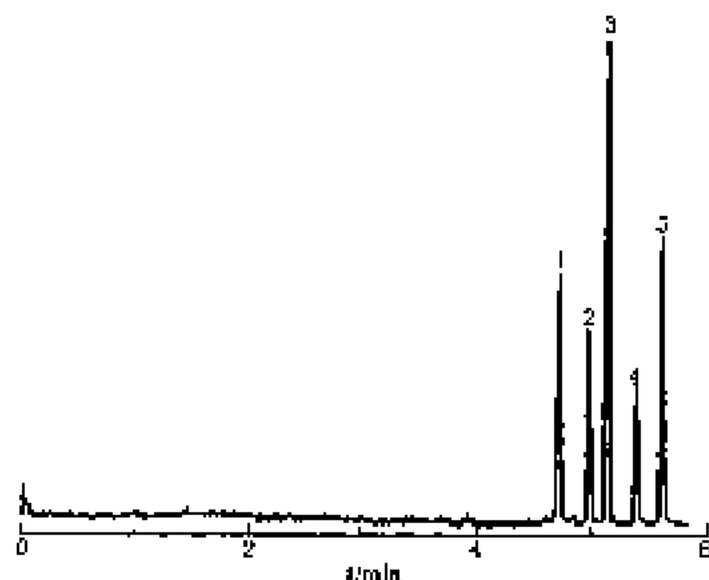
毛细管柱：有效柱长 50 cm，总柱长 65 cm，内径 75 μm，聚异丙基丙烯酰胺固定相

缓冲溶液：100 mmol·L⁻¹ Tris＋150 mmol·L⁻¹硼酸缓冲液（pH8.1）

电　压：30 kV

检测器：紫外（254 nm）

图 15-219 甾类化合物的连续床层电色谱柱分离谱图[illegible]



色谱峰：1—4-氨基-1-萘磺酸；2—5-氨基-1-萘磺酸；3—1-萘酚-4-磺酸；4—2-氨基-1-萘磺酸；5—8-氨基-2-萘磺酸

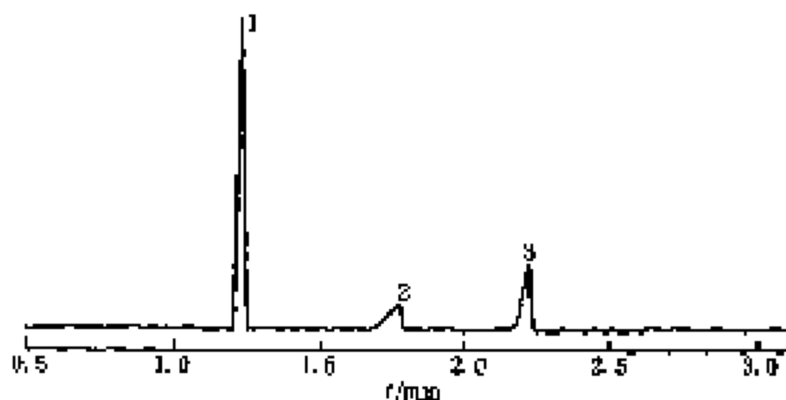
毛细管柱：PS-264 涂层开管 CEC 柱，有效长度 40 cm，总长度 50 cm，内径 10 μm

缓冲溶液：10 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液，0.25 mmol·L⁻¹四丁基铵，pH7.0

电　压：−21 kV

检测器：荧光检测

图 15-220　氨基萘磺酸的离子对电色谱分离谱图[165]



色谱峰：1—I^-；2—ReO_4^-；3—IO_3^-

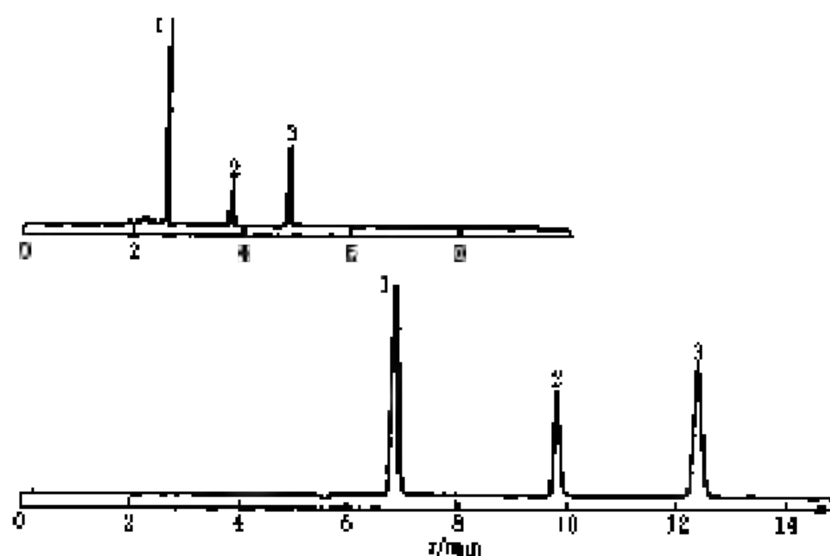
毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 60 cm，内径 75 μm，固定相 5 μm Nucleosil SB

缓冲溶液：5 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液 (pH2.6)

电　压：−30 kV

检测器：紫外 (190 nm)

图 15-221　I^-、ReO_4^-、IO_3^- 的离子交换毛细管电色谱分离谱图[162]



色谱峰：1—对羟基安息酸；2—丁脲胺；3—氟联苯丙酸

毛细管柱：柱长 21 cm，内径 50 μm，3 μm Hypersil C_{18}-强阴离子交换混合型固定相

缓冲溶液：乙腈＋50 mmol·L⁻¹磷酸盐 (pH2.3) ＋水 (体积比＝60：20：20)

进　样：5 kV，15 s

温　度：15℃

电　压：30 kV，压力 0.8 MPa

检测器：紫外 (210 nm)

图 15-222　3 种药物的电色谱分离谱图[345]

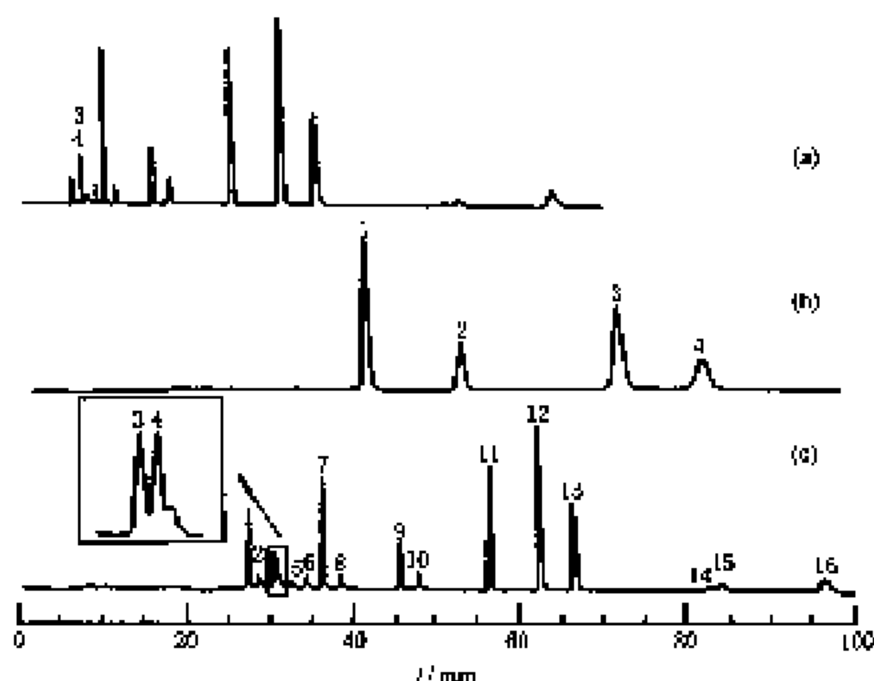


图 15-223 16种荧光样品的梯度和等度分离电色谱图

色谱峰：1—萘；2—苊；3—二氢苊；4—芴；5—菲；6—蒽；7—苯并[a]荧蒽；8—芘；9—苯并蒽；10、11—苯并[b]荧蒽；12—苯并[k]荧蒽；13—苯并[a]芘；14—二苯并[a，h]蒽；15—苯并[g，h，i]苝；16—茚并[1，2，3-cd]芘

色谱柱：内径75μm，填充柱长25cm，内填5μm C_{18}固定相

流动相：(a) 80% CH_3CN；(b) 65% CH_3CN；(c) 55%→80% CH_3CN 梯度洗脱

分离电压：20kV

进　样：5kV/5s

检　测：荧光检测器，λ_{ex}=267nm，λ_{em}=400nm

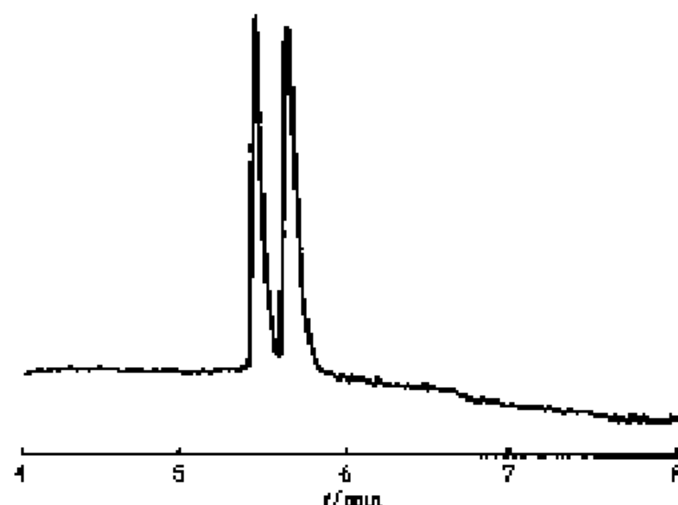


图 15-224 脱氧肾上腺素对映体在硅胶柱上的分离色谱图

色谱峰：脱氧肾上腺素对映体

色谱柱：内径75μm，填充柱长20cm；3μm Si

流动相：10mmol·L^{-1} TRIS (pH2.2) +14mmol·L^{-1} β-CD

进　样：1kV/1s

检测器：UV (214nm)

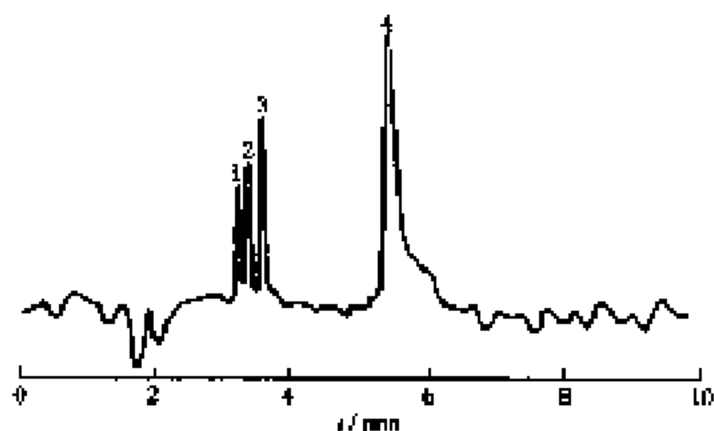


图 15-225　强阳离子交换柱对碱性药物分离电色谱图[104]

色谱峰：1—盐酸小檗碱；2—盐酸巴马汀；3—盐酸药根碱；4—苯酚

色谱柱：内径 75μm，填充柱长 30cm，内填 6μm SCX 填料

流动相：60% CH_3CN + 40% 10mmol·L^{-1} NaH_2PO_4 (pH3.1)

运行电压：12kV

进　样：4kV/4s

柱　温：25℃

检测器　UV (254nm)

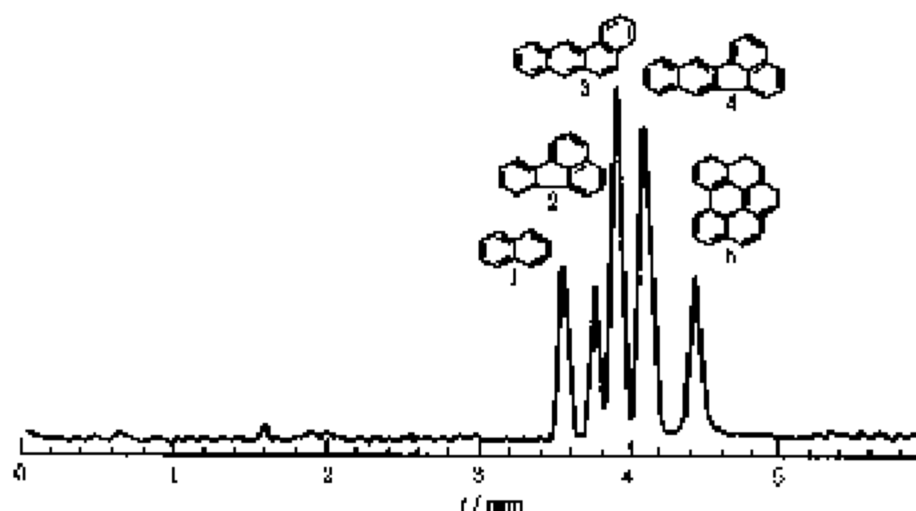


图 15-226　5 种稠环芳烃混合物的快速分离色谱图[105]

色谱峰：1—萘；2—二苯并 [a, b] 芴；3—苯并 [a] 蒽；4—二苯并 [a, ef] 芴；5—二苯并 [e, fg] 芘

色谱柱：内径 100μm，填充长度 6.5cm，内填 1.5μm 无孔 ODS

流动相：70%CH_3CN + 30%2mmol·L^{-1}TRIS (pH9)

运行电压：28kV

进　样：1kV/1s

检　测：荧光检测器，$λ_{ex}$=275nm，$λ_{em}$=400nm

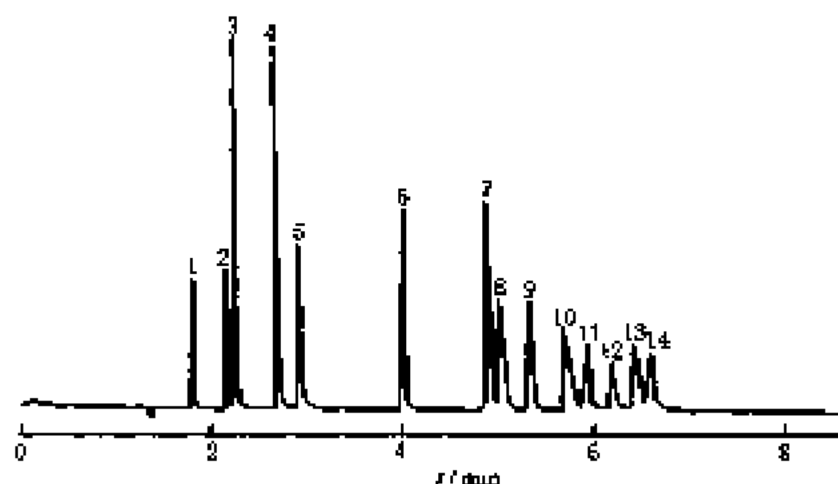


图 15-227　14 种爆炸物的毛细管电色谱分离谱图[169]

色谱峰：1—HMX；2—RDX；3—DNB；4—TNB；5—NB；6—TNT；7—2，4-DNT；8—Tetryl；9—2，6-DNT；10—2-Am DNT；11—2-NT；12—4-NT；13—4-Am DNT；14—3-NT

色谱柱：内径 75μm，填充长度 15cm，内填 1.5μm 无孔 ODS

流动相：15%CH_3OH+85% 1mmol·L^{-1} MES（pH=8.5）

检测器：UV（254nm）

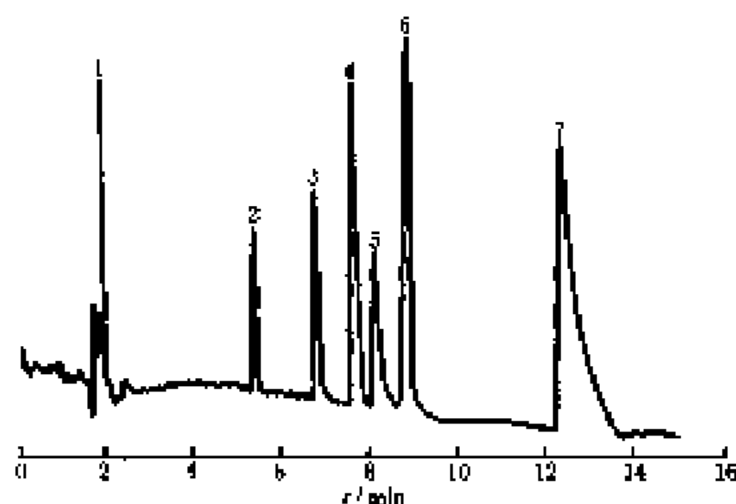


图 15-228　碱性化合物在硅胶固定相上的电色谱分离谱图[310]

色谱峰：1—苯酚；2—盐酸可卡因；3—盐酸小檗碱；4—蒂巴因；5—盐酸罂粟碱；6—盐酸麻黄素；7—磷酸可待因

色谱柱：内径 75μm，填充柱长 20cm，内填 3μm SI

流动相：80% CH_3CN+20% 2mmol·L^{-1} TRIS（pH8.29）

运行电压：30kV

进　样：5kV/2s

检测器：UV（214nm）

第四节　毛细管凝胶电泳及其他分离模式谱图

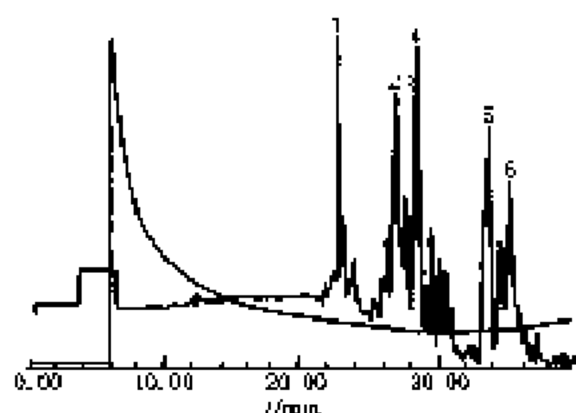


图 15-229　6 种标准蛋白的等点聚焦谱图[101]

色谱峰：1—细胞色素 C；2—胰凝乳蛋白酶原；3—马肌红蛋白；4—鲸肌红蛋白；5—β-乳球蛋白；6—铁蛋白；实线为电流曲线

毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：载体两性电解质混合液组成为 4%两性电解质(3—10)+0.8%TEMED—1%牛磺酸+0.13%甲基纤维素

阳极为 20 mmol·L⁻¹ H_3PO_4，阴极为 20 mmol·L⁻¹ NaOH，31 min 后聚焦同时施加一低气压 34.5 kPa

温　度：25℃

电　压：25 kV

检测器：紫外（280 nm）

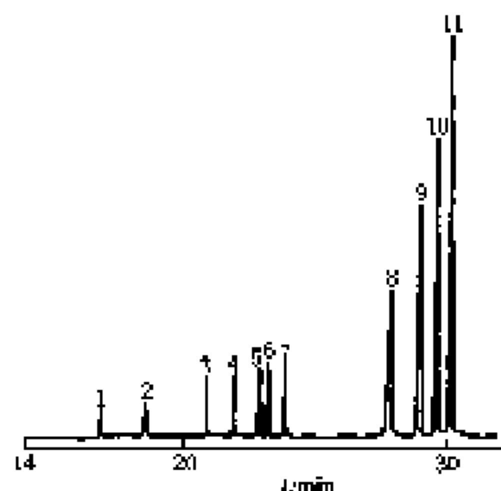


图 15-230　DNA 片段的分离谱图[102]

色谱峰：1—72bp；2—118bp；3—194bp；4—234bp；5—271bp；6—281bp；7—310bp；8—603bp；9—872bp；10—1078bp；11—1353bp

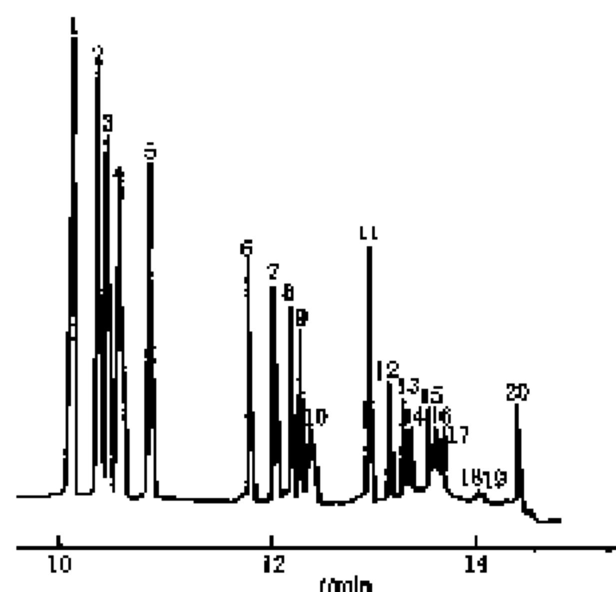
毛细管柱：有效长度 50 cm，总长度 57 cm，内径 100 μm，内壁涂覆

缓冲溶液：90 mmol·L⁻¹ Tris+90 mmol·L⁻¹ 硼酸+2 mmol·L⁻¹ EDTA+1 mg·L⁻¹ 溴化乙锭；3%非交联聚丙烯酰胺

温　度：25℃

电　压：9 kV

检测器：激光诱导荧光



色谱峰：1—587bp；2—540bp；3—504bp；4—458bp；5—434bp；6—267bp；7—234bp；8—213bp；9—192bp；10—184bp；11—123/124bp；12—104bp；13—89bp；14—80bp；15—64bp；16—57bp；17—51bp；18—21bp；19—18bp；20—8/11bp

毛细管柱：聚丙烯酰胺涂层，有效长度 29.2 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：1.0%MC，pH8.5

进　样：6 kV×5 s

电　压：7.2 kV

检测器：紫外（260 nm）

图 15-231　DNA 片段毛细管无胶筛分电泳谱图[103]

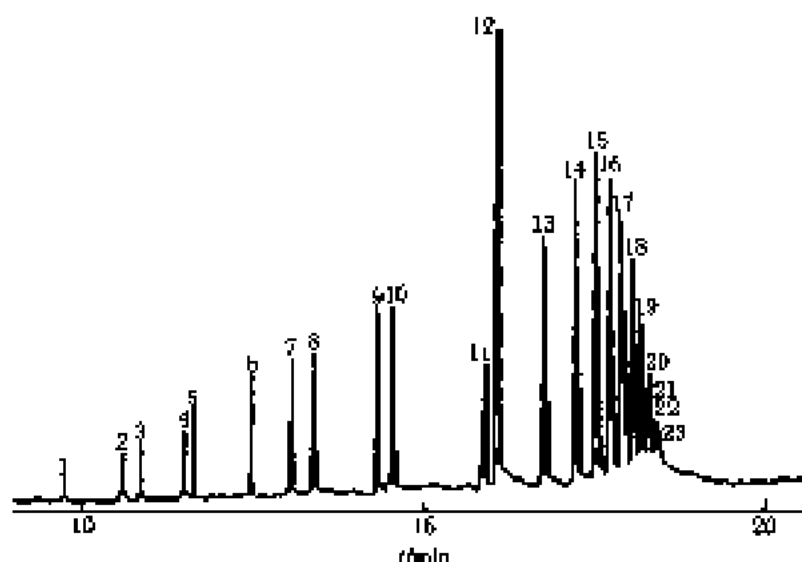


图 15-232 DNA 级分电泳分析谱图[178]

色谱峰：1—75bp；2—142bp；3—154p；4—200bp；5—220bp；6—298bp；7—344bp；8—394bp；9—506bp；10—516bp；11—1018bp；12—1635bp；13—2036bp；14—3054bp；15—4072bp；16—5090bp；17—6108bp；18—7126bp；19—8144bp；20—9162bp；21—10180bp；22—11198bp；23—12216bp

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 40 cm，内径 75 μm，3%T 0.5%C 交联聚丙烯酰胺

缓冲溶液：10 mmol·L^{-1} Tris-硼砂，pH8.3

进 样：电动进样

电 压：10 kV

检测器：紫外（260 nm）

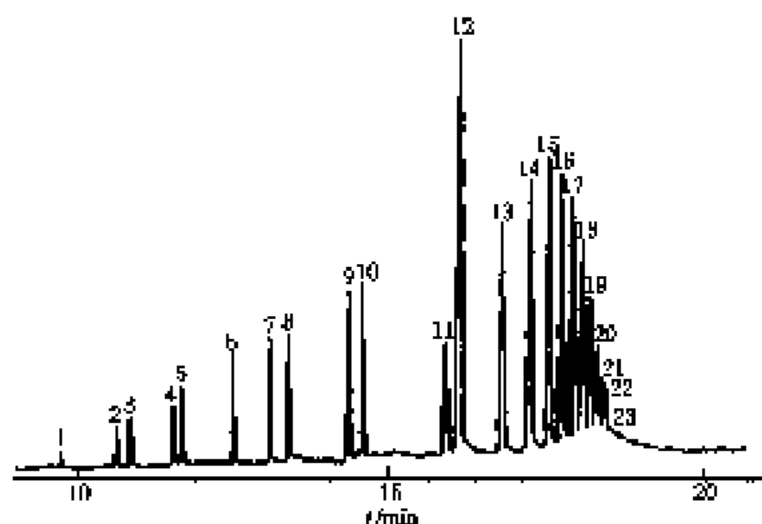


图 15-233 DNA 序列的 CGE 分离谱图[179]

色谱峰：1—75bp；2—142bp；3—154bp；4—200bp；5—220bp；6—298bp；7—344bp；8—394bp；9—506bp；10—516bp；11—1018bp；12—1635bp；13—2036bp；14—3054bp；15—4072bp；16—5090b；17—6108bp；18—7126bp；19—8144bp；20—9162bp；21—10180bp；22—11198bp；23—12216bp

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 40 cm，交联聚丙烯酰胺凝胶柱 3%T，0.5%C

缓冲溶液：0.1 mol·L^{-1} Tris-硼酸盐 pH8.3 2 mmol·L^{-1}EDTA

电 压：场强 250 V/cm

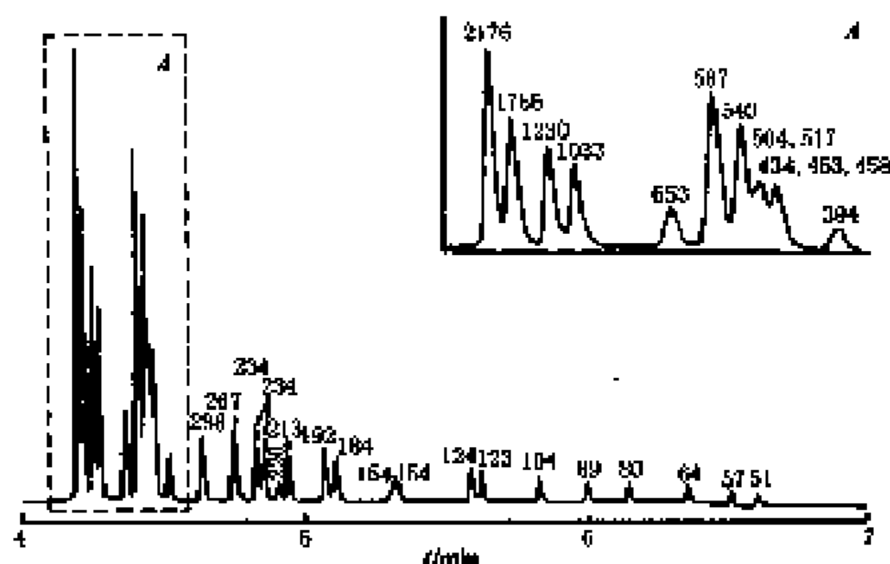


图 15-234 DNA 序列的 CGE 分离谱图[195]

色谱峰：图中所示数字为碱基对数

毛细管柱：有效柱长 25 cm，总柱长 36 cm，内径 10 μm，外径 365 μm

缓冲溶液：毛细管中充满 1×TBE 含 20 μg·mL^{-1} EtB 缓冲溶液中含 2%PEO，20 μg·mL^{-1} EtB

进　样：1kV，5s

电　压：15 kV

检测器：激光诱导荧光

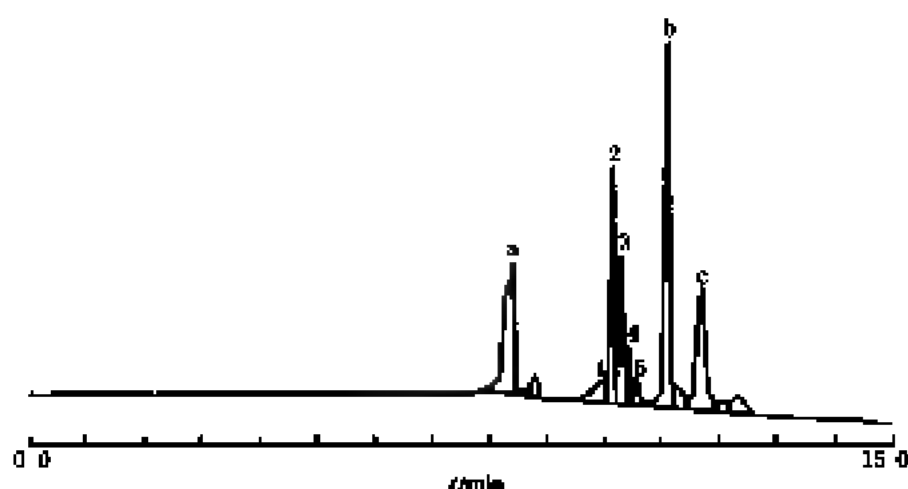


图 15-235 IgG 与标准蛋白的等电聚焦谱图[196]

色谱峰：1~5—IgG；a—细胞色素 C（pI 9.5）；b—肌红蛋白（pI 7.4）；c—肌红蛋白（pI 7.0）

毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 60 cm，内径 50 μm

缓冲溶液：阴极电解质为 20 mmol·L^{-1} NaOH，阳极电解质为 20 mmol·L^{-1} 磷酸

温　度：25℃

电　压：20 kV

图 15-236　M13mp 18DNA 序列分析谱图[179]

色谱峰：M13mp 18DNA 序列

缓冲溶液：线性 PAG 6%T，凝胶在 10°C 下与 0.1%TEMED 和 0.02%APS 聚合

温　度：32°C

电　场：250 V/cm

检测器：Ar^{+} 激光器（7 mW）（λ_{ex}=488 nm）

色谱峰：1—72bp；2—118bp；3—194bp；4—234bp；5—271bp；6—281bp；7—310bp；8—603bp；9—872bp；10—1078bp；11—1353bp

毛细管柱：有效柱长 8.5 cm，总柱长 11 cm

缓冲溶液：2%[illegible] BRE 溶于 20 $mmol \cdot L^{-1}$ Tris—TAPS

进　样：91 $V \cdot cm^{-1}$，7 s

温　度：30°C

电　压：1182 $V \cdot cm^{-1}$

检测器：激光诱导荧光检测

图 15-237　ΦX174 DNA-HaeⅢ 降解物的 CGE 谱图[180]

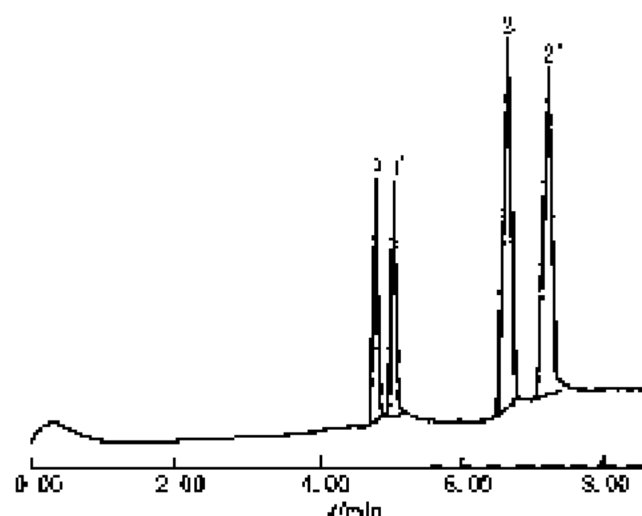


图 15-238　手性药物的电泳分离谱图[?]

色谱峰：1,1'—吡布特罗；2,2'—克仑特罗

毛细管柱：柱长 34 cm 内径 50 μm

缓冲溶液：50 mmol·L^{-1}磷酸盐 pH2.5 25 mmol·L^{-1}二甲基 β-CD

进　样：5×10³ MPa，5 s

电　压：20 kV

检测器：紫外（200 nm）

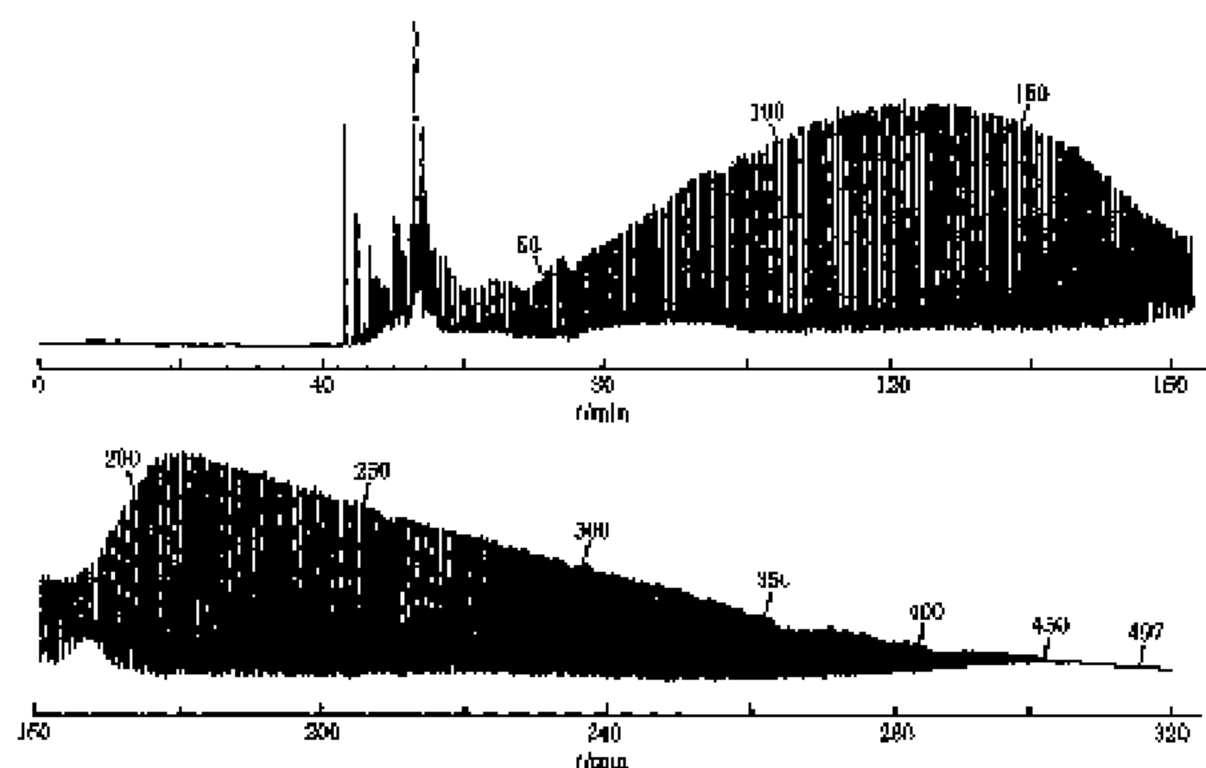


图 15-239　FITC 标志寡脱氧胸苷的毛细管凝胶电泳分离谱图[?]

色谱峰：脱氧胸苷

毛细管柱：有效柱长 50 cm，内径 75 μm 非交联聚丙烯酰胺凝胶柱

缓冲溶液：0.1 mol·L^{-1} Tris-硼酸盐缓冲液，7 mol·L^{-1}尿素，pH8.3

进　样：175 V·cm^{-1}，40 s

电　压：200 V·cm^{-1}

检测器：激光诱导荧光检测

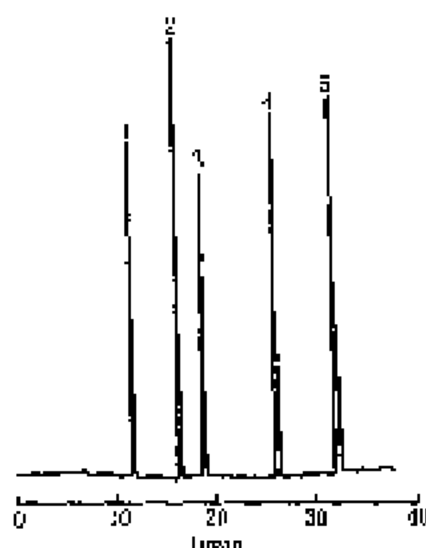


图 15-240　肌红蛋白和肌红蛋白片段的 CGE 分离谱图[175]

色谱峰：1—分子量 2550；2—分子量 6210；3—分子量 8160；4—分子量 14400；5—分子量 17000（肌红蛋白）

毛细管柱：有效长度 20 cm，内径 75 μm，交联聚丙烯酰胺柱 12.5%T，3.5%C

缓冲溶液：100 mmol·L^{-1} Tris-磷酸盐，8 mol·L^{-1}尿素，0.1% SDS pH6.6

进　样：电动进样

温　度：25℃

电　压：400 V·cm^{-1}

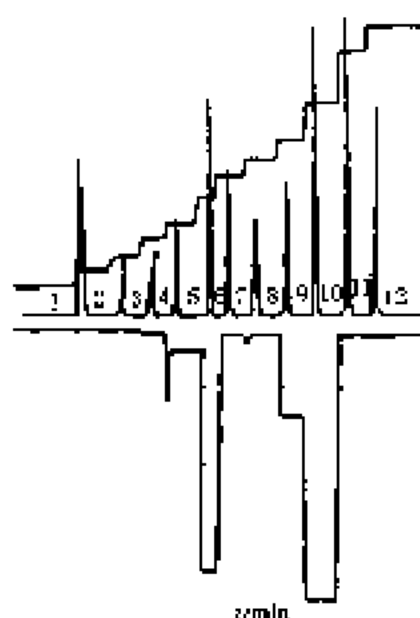


图 15-241　阳离子的等速电泳分离谱图[176]

色谱峰：1—K^+；2—Ba^{2+}；3—Na^+；4—$(CH_3)_4N^+$；5—Pb^{2+}；6—$C_5H_5N+CH_3CONHNH_2$；7—Li^+；8—[组氨酸]$^+$；9—[肌酸酐]$^+$；10—[联苯胺]$^+$；11—ε-氨基己酸；12—γ-氨基丁酸

毛细管柱：长度 20 cm，内径 500 μm

缓冲溶液：前导电解质 0.01 mol·L^{-1}，尾随电解质 0.01 mol·L^{-1} Tris-乙酸

温　度：20℃

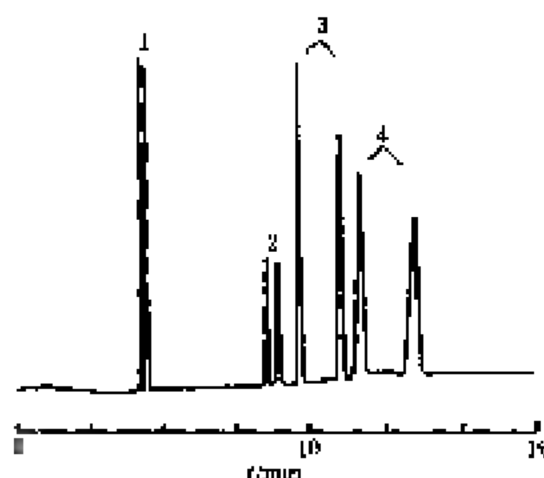


图 15-242　阳离子药物的电泳分离谱图[177]

色谱峰：1—[illegible]；2—麻黄碱；3—[illegible]；4—[illegible]

毛细管柱：有效柱长 40 cm，总柱长 47 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：15%甲醇，80 mmol·L^{-1}磷酸盐缓冲液（pH2.5）

进　样：(2~4) s

温　度：30℃

电　压：30 kV

检测器：紫外（280nm）

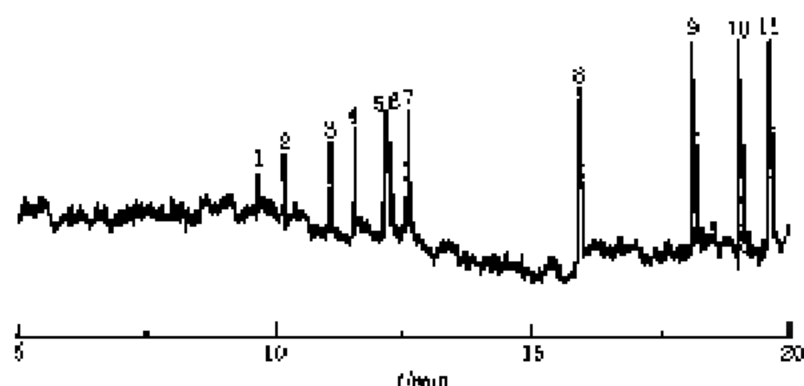


图 15-243 单链 DNA 碎片片段的电泳谱图[150]

色谱峰：1—72bp；2—118bp；3—194bp；4—234bp；5—271bp；6—281bp；7—310bp；8—603bp；9—872bp；10—1078bp；11—1353bp

毛细管柱：有效柱长 30 cm，总柱长 35 cm，内径 50 μm，epoxy 涂层

缓冲溶液：0.5% HEA，pH12

进　样：5 kV，4 s

电　压：6 kV

检测器：紫外（260 nm）

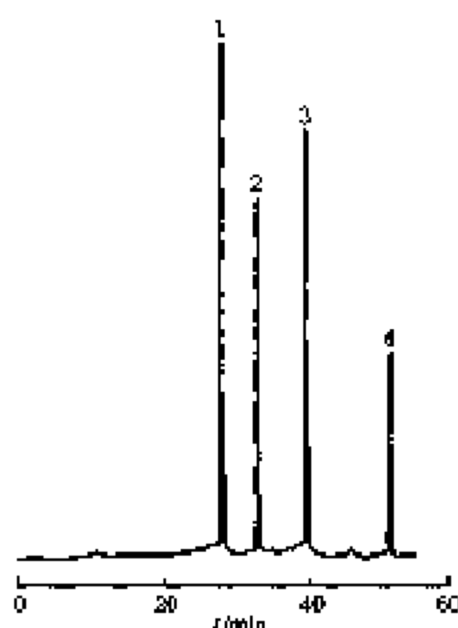


图 15-244 蛋白质的 CGE 分离谱图[151]

色谱峰：1—α-乳清蛋白；2—β-乳球蛋白；3—胰蛋白酶原；4—胃蛋白酶

毛细管柱：内径 75 μm 交联聚丙烯酰胺柱 10%T，3.5%C

缓冲溶液：90 mmol·L⁻¹ Tris-硼酸盐＋8 mol·L⁻¹尿素 0.1%SDS，pH8.6

进　样：电动进样

温　度：27℃

电　压：400 V·cm⁻¹

检测器：紫外

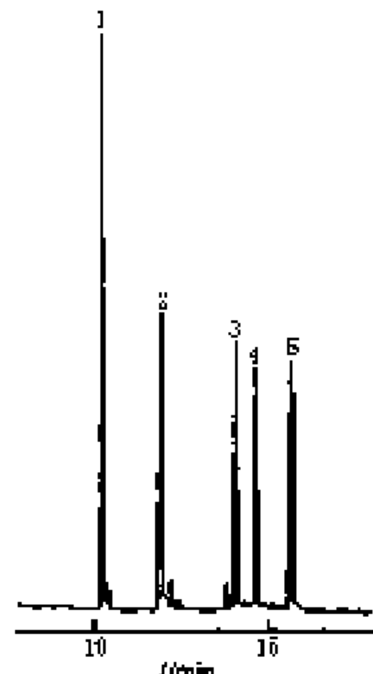


图 15-245 蛋白质的聚乙烯醇 CZE 分离谱图[152]

色谱峰：1—细胞色素 C；2—溶菌酶；3—胰蛋白酶；4—胰蛋白酶原；5—α-糜蛋白酶原 A

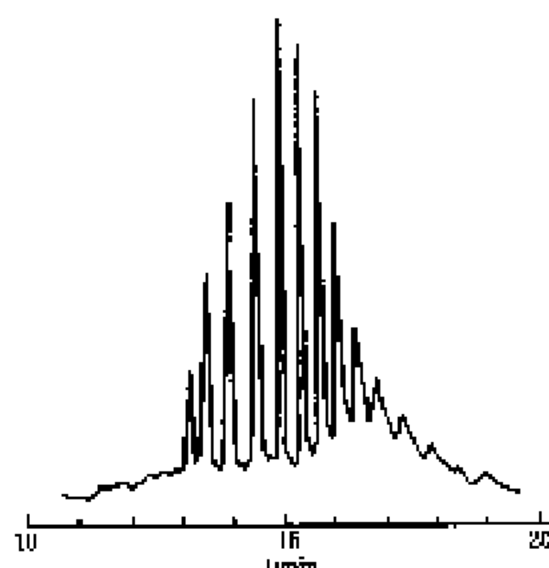
毛细管柱：有效长度 57 cm，总长度 75 cm，内径 75 μm

缓冲溶液：20 mmol·L⁻¹磷酸盐＋50 mmol·L⁻¹硼酸盐＋30 mmol·L⁻¹ NaCl（pH3.0）＋w＝0.05% PVA3500

进　样：5 kV×s 电动进样

温　度：20℃

电　压：25 kV



色谱峰：聚赖氨酸

毛细管柱：有效长度 30 cm，总长度 37 cm 内径 75 μm，交联聚丙烯酰胺凝胶柱，5%T，5%C

缓冲溶液：Bis-Tris 硼酸，pH6.0

温　度：25℃

电　压：7 kV

检测器：紫外（200 nm）

图 15-246　聚赖氨酸的 CGE 谱图[28]

参 考 文 献

1 Schmitt-Kopplin Ph，Fischer K，Freitag D，et al. J Chromatogr A，1998，807，89
2 Ding W，Thornton M J，Fritz J S. Electrophoresis，1998，19，2133
3 Geldart S E，Brown P R. J Chromatogr A，1997，792，67
4 Bazzanella A，Morbel H，Bachmann K，et al. J Chromatogr A，1997，792，143
5 Doble P M，Haddad P R. J Chromatogr A，1998，804，327
6 杨永坛，康怀武，李荣白等. 色谱，1998，16，434
7 Doble Ph，Haddad P R. Anal Chem，1999，71，15
8 Shao X，O'Neill K，Zhao Z，et al. J Chromatogr A，1994，680，463
9 Chen M，Cassidy R M. J Chromatogr，1993，640，425
10 王杰，陈梅峰，赵具峰. 分析化学，1999，27(1) 82
11 Larger P J，Jones A D，Dacombe C. J Chromatogr A，1998，799，309
12 Luo Y M，Schmeder M Stathe C M，et al. J Chromatogr A，1998，800，345
13 Kaneta T，Shiba H，Imasaka T. J Chromatogr A，1998，805，295
14 Cheng H T，Chen H S，Lee R J. Chromatogr A，1998，800，349
15 Hermann A，Radl B. J Chromatogr A，1998，803，313
16 Hilhorst M J，Somsen G W，Jong G J. J High Resol Chromatogr，1998，21，608
17 林炳承，刁辉霞，张蓓等. 分析化学，1994，22：449
18 Asthana A，Bose D，Srikrishna S，et al. Chromatographia，1998，48，807
19 Quang C，Khaledi M G. J High Resol Chromatogr，1994，17，99
20 Sepaniak M J. Capillary Electrophoresis. Theory and Practice. New York：Academic Press，1992，170
21 Brus-Melchibbin Ph Vol H C，MacGillivray R T A，et al. Anal Chem，1999，71：1633
22 Willetts M，Clarkson P，Cooke M. Chromatographia，1996，43，671
23 Devevre O，Putra D P，Botton B，et al. J Chromatogr A，1996，679，349
24 Gozel P，Gassmann E，Michelsen H，et al. Anal Chem，1987，59：44
25 Schepdael A V，Bergh J V D，Roets E，et al. J Chromatogr A，1996，730，305
26 周同惠等主编. 生物医药色谱进展，第一卷，上海. 1998，278
27 Bahnhorn U，Pyell U. J Chromatogr A，1997，792，157
28 Janini G M，Muschik G M，Issaq H J. Electrophoresis，1996，17，1575

29 Morawn H，Cassidy R M. J Chromatogr A，1997，790：185

30 Gozel P，Gassmann E，Michelsen H，et al. Anal Chem，1987，59：44

31 Towns J K，Regnier F E. Anal Chem，1991，63：1126

32 Nassar A E F，Lucas S V. Anal Chem，1999，71：1285

33 Jones R，Jandik P. J Chromatogr，1992，608：385

34 Honda S，Togashi K，Uegaki K，et al. J Chromatogr A，1998，805：277

35 Kaniansky D，Krcmova E，Madajova V，et al. J Chromatogr A，1997，772：327

36 Tanaka N，Nakagawa K，Hosoya H，et al. J Chromatogr A，1998，802：35

37 Pietrzyk D J，Chen S，Chanthawat B. J Chromatogr A，1997，775：327

38 西晓祥，廖杰，刘晓达等. 色谱，1998，16，465

39 Talmadge K W，Tan A K. J Chromatogr A，1997，780，565

40 Siomc M，Coello J，Iturriaga H，et al. J Chromatogr A，1998，793，165

41 Tsanmire V C，Robertson J，Wells R J，et al. J Chromatogr A，1995，708，169

42 Hsieh M M，Chang H T. J Chromatogr A，1998，793，145

43 Martinez D，Borrull F，Calull M. J Chromatogr A，1997，768，185

44 Fischer J，Jandera P，Stanek V. J Chromatogr A，1997，772，385

46 Cobb K A，Dolnik V，Novotny M. Anal Chem，1990，02，2478

46 Roldon-Assad R，Gareil P. J Chromatogr A，1995，708，339

47 Towns J K，Regnier F E. Anal Chem 1991，63，1126

48 Zemann A J. J Chromatogr A，1997，787：243

49 Ding W，Thornton M J，Fritz J S. Electrophoresis，1998，19：2133

50 Tjørnelund J，Hansen S H. Chromatographia，1997，44，5

51 Jandik P，Jones W R，Weston A，et al. LC/GC，1991，9，634

58 Liu Y M，Shen S H. J Chromatogr A，1994，668：259

53 Huang Y，Whang C W. Electrophoresis，1998，19：2140

54 竺瑞文等. 第一届毛细管电泳报告会文集，1993，108

55 余兆楼，竺瑞文，胡赓华等. 分析化学，1994，22，755

56 林启山，张任超，刘国诠. 色谱，1995，13：12

57 陈燕杰，谢铭德，杨永东. 分析化学，1999，27(5)，585

58 Swedberg S A. J Chromatogr，1990，503，449

59 Jamani G M，Muschik G M，Issaq H J. Electrophoresis，1996，17，1575

60 Martinez D，Borrull F，Marck R M，et al. Chromatographia，1996，43，619

61 Vassiu E，Veuthey J L. J Chromatogr A，1995，717，319

62 Tsuji K. J Chromatogr，1991，550，823

63 Sydor W，Mulere E. HPCE'91. San Diego，CA，USA

64 Arce L，Rios A，Valcarcel M. Chromatographia，1997，46，170

65 Mao Y，Sirén H，Vallet J，et al. J Chromatogr A，1997，792：13

66 任吉存，邓延倬，蔡介龙. 分析化学，1996，23，644

67 许国旺，Lehmann R，路鑫等. 中国科学，1997，39：157

68 傅健江，才国平，李艳杰. 色谱，1997，15，267

69 Gusal S，Andrade P B，Oliveira M B，et al. J L Chrom & Rel Technol，1999，22，513

70 Ruolund C J，Rassanelis A，Lochmann H，et al. J Chromatogr A，1998，811，281

71 周同惠. 生物医学色谱进展，第一卷. 上海，1992，398

72 Lauer H H，McManigill. Anal Chem，1986，58，166

73 蔡国华，张硕辉，张兆友等. 色谱，1996，14，247

74 Park S，et al. J Chromatogr A，1998，793：357

75 Lu X，Frank H. J High Resol Chromatogr，1998，21：309

76 赵明，刘鸿洋，程介克. 分析化学，1996，21：180
77 韦理文，邢更力，俞兆樑等. 分析化学，1996，21：750
78 Heuermann M，Blaschke G. J Chromatogr，1993，648：267
79 Wesson A，Brown P R，Jandik P，et al. J Chromatogr，1992，593：289
80 Ng C L，Lee H K，Li S F Y，et al. J Chromatogr A，1994，659：427
81 Lin C E，Chang C C，Chen W. J Chromatogr A，1997，768：105
82 Baranella A，Bachmann K. J Chromatogr A，1998，799：283
83 Vorndran A E，Oefner P J，Scherz H. Chromatographia，1992，33：163
84 Lin C-E，Lin W-C，Chen Y-C，et al. J Chromatogr A，1997，782：37
85 Imai Y，Han Y，Sawada H，et al. Chromatographia，1997，46：309
86 Abubaker M A，Bissell M G，Peterson J R. J Cap Electrophoresis，1995，2：105
87 Marina M M，Benito I，Diez-Masa J C，et al. Chromatographia，1996，42：269
88 Luong J H T，Guo Y. J Chromatogr A，1998，811：225
89 银晓林，沈玉，傅若农. 色谱，1996，14：92
90 Riekkola M L，Wiedmer S K，Valko I，et al. J Chromatogr A，1997，792：13
91 Collet J，Gareil P. J Chromatogr A，1997，792：165
92 Muijselaar P G，Otsuka K，Terabe S. J Chromatogr A，1998，802：3
93 Knapp C M，Breen J J. J Chromatogr A，1998，799：289
94 Ferslew A，Ornskov E，Folestad S. J High Resolu Chromatogr，1996，19：229
95 宋文国，陈琪，张乐. 色谱，1999，17(4)：279
96 Otsuka K，Ishihara M，Kawaguchi Y，et al. J Chromatogr，1993，652：253
97 Capella L，Stoyanov V A，Wajeman H，et al. J Chromatogr A，1997，791：313
98 王志，黄爱今，孙承樑等. 化学学报，1998，56：90
99 赖家宝，邱德敏，陈吉樑. 分析化学，1994，22：1085
100 Tickle D C，et al. Anal Chem，1994，66：4121
101 Chen Y，Lin C. J Chromatogr A，1998，802：95
102 Nouadje G，Simeon N，Dedieu F，et al. J Chromatogr A，1997，765：337
103 Wu H L，Huang C H，Chen S H，et al. J Chromatogr A，1998，802：107
104 Frach K，Blaschke G. J Chromatogr A，1998，808：247
105 Wallingford R，Curry J S. Anal Chem，1991，63：833
106 Catherine O，Thompson V，Tressera C. J Chromatogr A，1995，704：195
107 Kodama S，Yamamoto A，Matsunaga A. J Chromatogr A，1998，811：269
108 Strickland M，Weinar B C，Broadbent J. J Chromatogr A，1996，731：305
109 Mikesik J，Gabriel J，Devl Z. J Chromatogr A，1997，772：297
110 赵榆林，魏重藏，郭汉德. 分析化学，1997，25：639
111 Mazzeo J R，Grover E R，Swartz M E，et al. J Chromatogr A，1994，680：125
112 Barroso M B，Konda L N，Morovjan G. J High Resol Chromatogr，1999，22：171
113 周春宏，廖杰，钱小红等. 色谱，1997，15：159
114 俞兆樑，陈义，常理文. 分析化学，1998，24：444
115 Nishi H，Fukuyama T，Matsuo M，et al. J Pharm Sci，1990，79：519
116 林炳承. 毛细管电泳进展. 第二卷. 广州：华南理工大学出版社，1995：198
117 Nishi H，Terabe S. J Chromatogr A，1995，694：245
118 Wan H，Andersson P E，Engstrom A，et al. J Chromatogr A，1995，704：179
119 Deshaies P L，Rong C M. J Chromatogr A，1995，689：107
120 Buskov S，Moller P，Sorensen H，et al. J Chromatogr A，1998，802：233
121 Klampfl C W，Buchberger W，Turner M，et al. J Chromatogr A，1998，804：349
122 Kawamura K. J Chromatogr A，1998，802：167

123 Elisabeth P, Yoshioka M, et al. J Chromatogr A, 1998, 806: 199
124 Belder D, Schomburg G. J Chromatogr A, 1994, 666: 351
125 Altria K D. J Chromatogr A, 1999, 856: 971
126 Liebich H M, Xu G, et al. J Chromatogr B, 1998, 793: 341
127 Lin J, Nakagawa T, Uchiyama K, Hobo T. J L Chrom & Rel Technol, 1997, 20: 1489
128 Schweitz L, Andersson L I, Nilsson S. Anal Chem, 1997, 69: 1179
129 Pesek J J, Matyska M T, Mauskar L. J Chromatogr A, 1997, 763: 307
130 Wu J, Huang P, Li M X, et al. Anal Chem, 1997, 69: 320
131 Narang P, Colon L A. J Chromatogr A, 1997, 773: 65
132 Lord G A, Gordon D B, Tetler L W, et al. J Chromatogr A, 1995, 700: 27
133 Dadoo R, Zare R N. Anal Chem, 1998, 70: 4787
134 陈宗平，李清白，陶嘉浩. 色谱，2000，18(2)：148
135 Smith N W, Evans M B. Chromatographia, 1994, 38: 649
136 Stead D A, Reid R G, Taylor R B. J Chromatogr A, 1998, 798: 259
137 Cohen A S, Karger B L. J Chromatogr, 1987, 397: 409
138 Li S, Lloyd D K. J Chromatogr A, 1994, 666: 325
139 Lord G B, Gordon B, Myers P, et al. J Chromatogr A, 1997, 768: 9
140 Boesch S, Heemstra S, Kraak J C, et al. J Chromatogr A, 1996, 775: 165
141 Zheng L, Zou H, Shi W, et al. J Cap Elec, 1998, 005: 101
142 Bailey C G, Yan C. Anal Chem, 1998, 70: 3275
143 Zheng M, Rassi Z E. Electrophoresis, 1998, 19: 2068
144 Saffar R M, Kok W Th, Kraak J C. Chromatographia, 1997, 46: 252
145 LeLievre F, Yan C, Zare R N, et al. J Chromatogr A, 1996, 723: 145
146 Altria K D, Smith N W, Turnbull C H. J Chromatogr B, 1998, 717: 341
147 Euerby M R, Gilligan D, Johnson C M, et al. Analyst, 1997, 122: 1087
148 Behnke B, Bayer E. J Chromatogr A, 1994, 680: 93
149 Taylor M R, Teale P. J Chromatogr A, 1997, 768: 89
150 庞雄，邹汉法，张丽华等. 科学通报，1998，43：498
151 Huber C G, Choudhary G, Horvath Cs. Anal Chem, 1997, 69: 4429
152 Gilges M, Husmann H, Kleemiss M H, et al. J High Resolu Chromatogr, 1992, 15: 452
153 Lurie I S, Conver T S, Ford V L. Anal Chem, 1998, 70: 4563
154 Huber C G, Choudhary Gargi, Horvath Csaba. Anal Chem, 1997, 69: 4429
155 Eimer Th, Unger K K. Trends in Anal Chem, 1996, 15: 463
156 Mayer S, Schurig V. J L Chromatogr, 1993, 16: 915
157 Maruska A, Pyell U. J Chromatogr A, 1997, 782: 167
158 Pyell U, Rebscher H, Banholczer A. J Chromatogr A, 1997, 779: 155
159 Luo Y, Kuhr W G. Anal Chem, 1997, 71: 1668
160 Palm A, Novotny M V. Anal Chem, 1997, 69: 4499
161 Fujimoto C, Fujise Y. Anal Chem, 1996, 68: 2753
162 Li D, Knobel H H, Remcho V T. J Chromatogr B, 1997, 695: 169
163 Fisher W D, Yeung E S. J Chromatogr, 1991, 557: 125
164 林炳承. 毛细管电泳进展. 第二卷. 广州：华南理工大学出版社，1995，143
165 Euerby M R, Johnson C M, Bartle K D. LC/GC, 1998, 16: 386
166 刘晓达，廖杰，鲁景庚等. 色谱，1997，15：5
167 程吉仔，邓锦云，曾昭荣. 高等学校化学学报，1996，17(4)：362
168 郭娟，程新华，叶忠旭等. 分析化学，1996，24：653
169 Hager D N, Cohen A S, Karger B L. J Chromatogr, 1990, 516: 33

170 S. Hjerten. J Chromatogr, 1983, 270, 1

171 Chen H-S, Chang H-T. Anal Chem, 1999, 71, 2033

172 Dai H J, Krull I S. J Chromatogr A, 1998, 807: 121

173 Martinez R, et al. Anal Chem, 1993, 65, 2851

174 Klepernik K, Mala Z, Bocek P. J Chromatogr A, 1997, 772, 243

175 Cohen A S, Karger B L. J Chromatogr, 1987, 397, 409

176 Chen N, Manabe T, Terabe S, et al. J Microcol Sep, 1994, 6, 541

177 何忠效，张树政，曾安，陈义. 电泳. 北京：科学出版社，1990，179

178 Nishi H, Izumoto S, Nakamura K, et al. Chromatographia, 1996, 42, 617

179 Yan C, Dadoo R, Zare R N, Rakestraw D J. Anal Chem, 1996, 68: 2726

180 Dadoo R, Yan C, Zare R N, Rakestraw D J, Anex D. Anal Chem, 1998, 70: 4787

181 Yan C. Anal Chem, 1998, 70: 3275

182 Wei W, Luo G, Yan C. J Microcolumn Separations, 1998 (in press)

183 Wei W, Luo G, Yan C. J Chromatogr A, 1998, 817, 65

184 Wei W, Luo G, Yan C. American Laboratory, 1998, 30, 20

谱图索引

化合物名称索引

一画

二画

三 画

四 画

五画

六 画

七 画

八 画

九 画

十画

十一 画

十二 画

十三画

十四 画

十五 画

十六 画

十七画以上

其 他

本书中其他缩写符号表

缩写	名称
X 或 x	未知物
Ado	腺苷
ADP	腺二磷
Ala、ALA	丙氨酸
AMP	腺一磷
Arg、ARG	精氨酸
Asn、ASN	天冬酰胺
Asp、ASP	天冬氨酸
ATP	腺三磷
CDP	胞二磷
Cit	柠檬酸
CMP	胞一磷
CTP	胞三磷
Cys、CYS	半胱氨酸
dAMP	脱氧腺一磷
DBT	二苯甲酰硫胺素
dCMP	脱氧胞一磷
dGMP	脱氧鸟一磷
DIT	二碘酪氨酸
dl、DL	外消旋化
DNP	二硝基苯酚
DNPH	二硝基苯肼
Dns	丹磺酰基
DOPA	多巴
DP	聚合度
dTMP	脱氧胸一磷
GABA	γ-氨基丁酸
GDP	鸟二磷
Gln、GLN	谷氨酰胺
Glu、GLU	谷氨酸
Gly、GLY	甘氨酸
GMP	鸟一磷
GTP	鸟三磷
His、HIS	组氨酸
Hyp	羟基脯氨酸
IgG	免疫球蛋白
Ile、ILE	异亮氨酸
IMP	肌苷一磷酸
iso	异
Leu、LEU	亮氨酸
Lys、LYS	赖氨酸
m	间
Met、MET	蛋氨酸
MIT	一碘酪氨酸
MTH	甲基乙内酰脲
NAD	辅酶 I
o	邻
OPA	邻苯二甲醛
Orn	鸟氨酸
p	对
Phe、PHE	苯丙氨酸
Pro、PRO	脯氨酸
PTC、PTH	异硫氰酸苯酯
SDS	十二烷基硫酸钠
Ser、SER	丝氨酸
T0	甲状腺原氨酸
T2	二碘甲状腺原氨酸
T3	甲碘安
T4	四碘甲状腺原氨酸
Tau	牛磺酸
TBTO	氧化三丁锡
TCT	降钙素
Thr、THR	苏氨酸
TMP	胸一磷
TPT	氯化三苯锡
Trp、Try、TRP	色氨酸
Tyr、TYR	酪氨酸
UDP	尿二磷
UMP	尿一磷
UTP	尿三磷
Val	缬氨酸
w	质量分数
φ	体积分数